



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA STROJNÍHO INŽENÝRSTVÍ

FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING

**ÚSTAV MECHANIKY TĚLES, MECHATRONIKY A
BIOMECHANIKY**

INSTITUTE OF SOLID MECHANICS, MECHATRONICS AND BIOMECHANICS

**ANALÝZA DISTRIBUCE SMĚRŮ KOLAGENNÍCH
VLÁKEN V MĚKKÝCH TKÁNÍCH**

ANALYSIS OF DIRECTION DISPERSION OF COLLAGEN FIBERS IN SOFT TISSUES

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Terézia Sádovská

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Michaela Turčanová

BRNO 2019

Zadání bakalářské práce

Ústav: Ústav mechaniky těles, mechatroniky a biomechaniky
Studentka: **Terézia Sádovská**
Studijní program: Strojírenství
Studijní obor: Základy strojního inženýrství
Vedoucí práce: **Ing. Michaela Turčanová**
Akademický rok: 2018/19

Ředitel ústavu Vám v souladu se zákonem č.111/1998 o vysokých školách a se Studijním a zkušebním řádem VUT v Brně určuje následující téma bakalářské práce:

Analýza distribuce směrů kolagenních vláken v měkkých tkáních

Stručná charakteristika problematiky úkolu:

Mechanické vlastnosti měkkých tkání jsou zásadně ovlivněny směrovou orientací kolagenních vláken. Ta se určuje pozorováním histologických preparátů pod mikroskopem a směr kolagenních vláken vykazuje u mnoha měkkých tkání významný rozptyl. Cílem práce je vyhodnotit tento rozptyl u vybraných typů tkání, matematicky jej kvantifikovat a na úrovni znalostí z bakalářského studia analyzovat jeho dopad na mechanické vlastnosti tkáně.

Cíle bakalářské práce:

Provedte literární rešerši vlastností měkkých tkání a struktury kolagenních vláken v nich.
Pro vybrané tkáně experimentálně vyhodnoťte a popište směrové rozložení vláken.
Vyhodnoťte možnosti popisu mechanické odezvy těchto tkání na stávající úrovni znalostí.

Seznam doporučené literatury:

JANÍČEK, P., ONDRÁČEK, E., VRBKA J., BURŠA, J.: Mechanika těles, Pružnost a pevnost II, skriptum VUT Brno, CERM, Brno 2006.

AGARWAL, B.D., BROUTMAN, L.J.: Vláknové kompozity, SNTL, Praha 1987

BURŠA, J.: Biomechanika III. Podklady pro přednášky

Termín odevzdání bakalářské práce je stanoven časovým plánem akademického roku 2018/19

V Brně, dne

L. S.

prof. Ing. Jindřich Petruška, CSc.
ředitel ústavu

doc. Ing. Jaroslav Katolický, Ph.D.
děkan fakulty

Abstrakt

Bakalárska práca sa zaoberá analýzou smerového rozloženia kolagénových vlákien v mäkkých tkanivách - v tepnách a v šľachách. Prvá časť stručne približuje anatómiu cievnej sústavy človeka so zameraním na stavbu tepien. Objasňuje princíp polarizačnej mikroskopie materiálov vykazujúcich dvojlom. Ďalšia časť práce sa zameriava na vysvetlenie závislosti medzi smerom zaťaženia tepny a jej mechanickými vlastnosťami vyjadrenými modulom pružnosti v ťahu a na základe výsledkov ťahových skúšok prasacích aort určuje mieru anizotropie. Nasledujúca časť rieši pomocou teórie lineárnej pružnosti a pevnosti napätie v stene tepny vyvolané tlakom prúdiacej krvi. Posledná časť práce skúma rozloženie kolagénových vlákien v prasacej šľache a v prasacej aorte a toto rozloženie popisuje pomocou rozdelenia Von Mises. V závere porovnáva výsledky manuálneho merania smerového rozloženia s výsledkami automatického algoritmu.

Kľúčové slová

kolagénové vlákno, aorta, smerové rozloženie, šľacha, anizotropia, ťahová skúška, histogram, rozdelenie Von Mises

Abstract

The bachelor thesis deals with the directional distribution of collagen fibres in soft tissues especially in arteries and tendons. The first part gives basic information about anatomy of human vascular system, particularly structure of the arteries. There are explained polarization microscopy principle of materials exhibiting birefringence. Further is described relation between direction of density and mechanical properties expresses as modulus in tensile. In the next section, we will be defined stress in arterial wall using linear strength and stiffness. In the last part of thesis will be observed dispersion of collagen fibres in tendon. This dispersion is described by circular distribution Von Mises. At the end is evaluated how dispersion of collagen fibres effects mechanical properties of arteries.

Keywords

collagen fibre, aorta, directional dispersion, tendon, anisotropy, tensile test, histogram frequency chart, Von Mises distribution

SÁDOVSKÁ, Terézia. *Analýza distribuce směru kolagenních vláken v měkkých tkáních*. [online]. Brno, 2019 [cit. 2019-05-23]. 55 s. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/117641>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství, Ústav mechaniky těles, mechatroniky a biomechaniky. Vedoucí práce Michaela Turčanová

Prehlasujem, že som svoju bakalársku prácu na tému Analýza distribúcie smeru kolagénových vlákien vypracovala samostatne pod vedením Ing. Michaely Turčanovej a s použitím materiálov uvedených v zozname literatúry na konci práce.

V Brne 24. 05. 2019.

Ďakujem svojej vedúcej Ing. Michaele Turčanovej za odborné vedenie, podporu, motiváciu a trpezlivosť, ktorú so mnou mala pri písaní tejto práce. Ďalej by som chcela poďakovať prof. Ing. Jiřímu Buršovi, Ph.D., za jeho cenné odborné rady a pripomienky.

Terézia Sádovská

Obsah

Úvod	13
1 Ciele práce	14
2 Lekárske minimum	15
2.1 Obehová sústava	15
Malý obeh (telový)	15
Veľký obeh (pľúcny)	15
2.2 Tepny (artérie)	16
2.2.1 Krv a krvný tlak	16
2.2.2 Stavba steny tepny	17
Tunica intima	17
Tunica media	17
Tunica externa	17
2.3 Kolagén	18
2.4 Elastín	18
2.5 Bunky hladkej svaloviny	19
2.6 Šlachy	19
3 Polarizačná mikroskopia	20
4 Rešerš vedeckých článkov	21
5 Mechanické vlastnosti tepny	23
5.1 Ťahová skúška aorty	23
5.2 Určenie modulu pružnosti aorty v ťahu	24
5.3 Namerané hodnoty	25
5.4 Parameter anizotropie	26
5.5 Porovnanie mechanických vlastností tepien	27
6 Výpočet napätia v stene tepny	28
6.1 Hrubostenné valcové teleso	28
6.2 Bezmomentová škrupina	31
6.3 Zhodnotenie	33
7 Analýza smeru kolagénových vlákien	34
7.1 Postup merania	34
7.2 Rozdelenie Von Mises	36
7.3 Výsledky merania rovných vlákien	36
7.4 Výsledky merania zvlnených vlákien	42

7.5	Výsledky merania stlačenej aorty.....	46
7.6	Zhodnotenie	49
8	Záver	50
9	Referencie	51
10	Zoznam použitých symbolov a skratiek.....	54

Úvod

Cievne choroby patria medzi najzávažnejšie zdravotnícke, sociálne a ekonomické problémy vo vyspelých krajinách. Môžu zapríčiniť vážne chorobné zmeny ktoréhokoľvek orgánu v tele. Najčastejšími cievnyimi ochoreniami sú napríklad ateroskleróza a aneuryzma. Tieto zákerné choroby, ktoré veľmi často končia smrťou pacienta, sú zapríčinené rizikovými faktormi ako fajčenie, alkohol, hypertenzia, telesná inaktivita, nedostatok stopových prvkov, stres.

Existujú modely, ktoré dokážu vyhodnotiť mechanické vlastnosti postihnutej cievy a predvídať jej správanie, stabilitu či riziko pretrhnutia a tým uľahčiť lekárom rozhodovanie o potrebe operačného zákroku. Významným vstupom pre tieto modely sú informácie o stavbe steny tepny. Práca je zameraná na poukázanie závislosti mechanických vlastností na smere, v ktorom sú zaťažované a určenie smerového rozloženia kolagénových vlákien vo vybraných histologických vzorkách pozorovaných pod polarizačným mikroskopom.

Kvantifikovať smerové rozloženie vlákien je možné určiť ručne, ale na zefektívnenie a uľahčenie práce sa vyvíjajú algoritmy, ktoré automaticky vyhodnotia smerové rozloženie. Na ich overenie je potrebné zistiť distribúciu smeru vlákien rovnakým spôsobom, akým ju určuje algoritmus.

Práca rieši manuálne vyhodnotenie smeru kolagénových vlákien, ktoré je následne porovnané s dátami z automatického algoritmu, na základe čoho sú určené parametre smerového rozdelenia.

1 Ciele práce

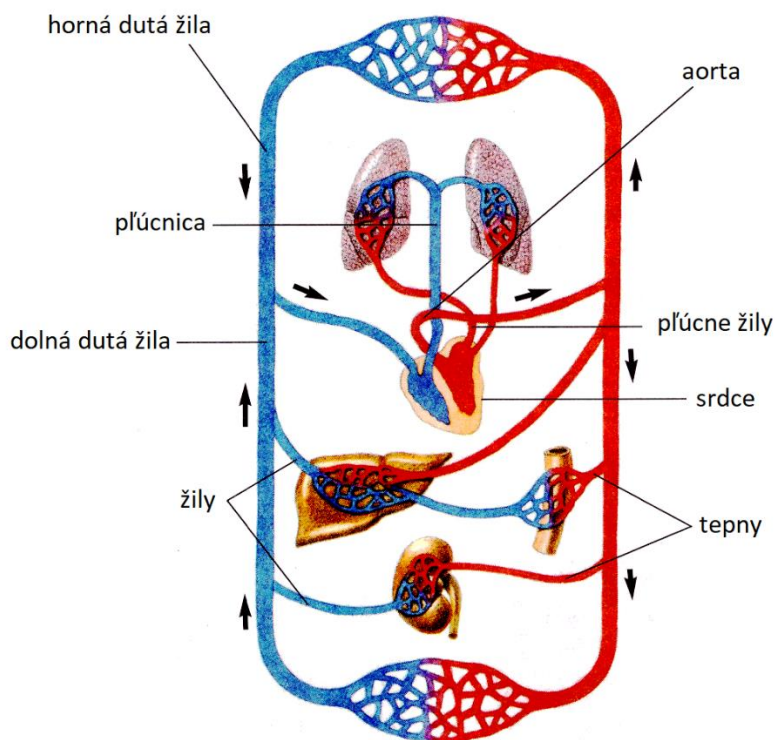
1. Urobiť literárnu rešerš vlastností mäkkých tkanív a štruktúry kolagénových vlákien v nich.
2. Pre vybrané tkanivá experimentálne vyhodnotiť a popísať smerové rozloženie vlákien.
3. Vyhodnotiť možnosti popisu mechanickej odozvy týchto tkanív na súčasnej úrovni vedomostí.

2 Lekárske minimum

Na začiatku práce budú približené pojmy a termíny z obehovej sústavy, jej častí a stavba ciev a šliach, v ktorých budú pozorované a vyhodnocované smery kolagénových vlákien. Tieto informácie boli prevzaté z [1] a [2].

2.1 Obehová sústava

Obehovú sústavu tvoria uzavreté trubice – cievy, v ktorých prúdi krv a transportuje živiny a dýchacie plyny. Stavba ciev sa líši podľa ich funkcie v cievnej sústave, na základe čoho sa rozlišujú tepny, ktoré sa ďalej vetvia a stenčujú na žily, až prechádzajú na vlásočnice a kapiláry. Keďže sa táto práca zaoberá mechanickými vlastnosťami tepien, ich stavba bude popísaná podrobnejšie v ďalšom odstavci.



Obr. 1 Malý a veľký krvný obeh, prevzaté a upravené z [3]

- **Malý obeh (telový)**

Časť krvného obehu (Obr. 1), v ktorom prúdi krv pľúcnicou do pľúc a odtiaľ žilami späť do srdca.

- **Veľký obeh (pľúcny)**

Časť krvného obehu (Obr. 1), v ktorom prúdi krv aortou do celého tela a do srdca sa vracia hornou a dolnou dutou žilou.

2.2 Tepny (artérie)

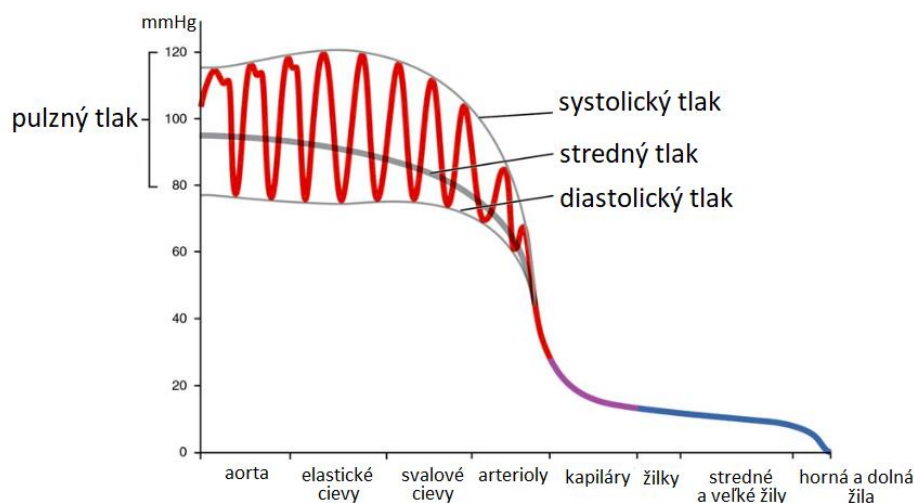
Steny tepien sú pevné a pružné, adaptované na nárazy rýchlo vypudenej krvi srdcom. Rýchlosť a tlak krvi postupom cievnej sústavy klesajú, pretože pribúdajúcimi vetvami rastie súčet plôch prierezu a dosahuje vyšších hodnôt ako plocha prierezu tepny pred rozvetvením. Z toho vyplýva, že tepny sú najviac namáhané cievy z cievnej sústavy.

2.2.1 Krv a krvný tlak

Krv je červená, nepriehľadná a neneutnovská kvapalina, ktorú tvorí krvná plazma a krvné bunky – krvinky a umožňuje prenos látok a dýchacích plynov (O_2 , CO_2) medzi vonkajším a vnútorným prostredím.

Krv vyvíja tlak na stenu ciev a líši sa podľa typu cievy (Obr. 2), preto sa pod pojmom krvný tlak rozumie tlak v tepnách. Krvný tlak závisí od výkonu srdca, množstva cirkulujúcej krvi a odporu cievneho sústavy - pri zúžení cievy (ateroskleróza) rastie, naopak pri rozšírení (aneurizma) klesá. V lekárskej praxi sa krvný tlak neudáva v jednotkách SI sústavy - Pascal [Pa], ale v [mmHg], čo je definované ako hydrostatický tlak vyvolaný 1 milimetrom ortuťového stĺpca a $1 \text{ mmHg} = 133,322 \text{ Pa}$.

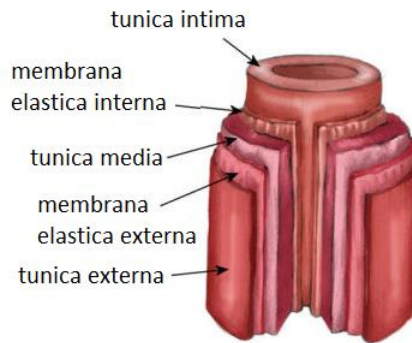
Stredný krvný tlak je priemerná hodnota krvného tlaku počas jedného cyklu srdca (Obr. 2) a vypočíta sa ako súčet jednej tretiny systolického a dvoch tretín diastolického tlaku.



Obr. 2 Priebeh krvného tlaku v cievnej sústave. Prevzaté a upravené z [4]

2.2.2 Stavba steny tepny

Steny ciev tvoria tri základné vrstvy – tunica intima, media a externa, medzi ktorými sú laminy – membrana elastica interna a externa (Obr. 3),



Obr. 3 Stavba steny tepny, prevzaté a upravené z [5]

- **Tunica intima**

Tunica intima je vnútorná stena tepny, ktorú tvorí vrstva plochých endotelových buniek, zarovnaných v smere prúdenia krvi. Je podložená sieťou kolagénových a elastických vlákien. V ľudskom tele tvorí asi 20 % hrúbky steny. Táto vrstva je postihnutá pri ateroskleróze, kedy dochádza k ukladaniu častíc, čím sa znižuje priemer tepny. [6]

- **Tunica media**

Tunica media je stredná vrstva tepny a je najsilnejšia a je považovaná za hlavnú nosnú vrstvu. Jej hrúbka predstavuje asi 50 % celkovej hrúbky steny [6]. Tvorí ju hladká svalovina, ktorej bunky prebiehajú cirkulárne alebo v špirálovitých závitoch. Okolo buniek sú siete kolagénových a elastických vlákien. Tepny sa rozdeľujú podľa prevažujúcej elastickej alebo svalovej zložky na tepny elastického typu a svalového typu. Medzi tepny elastického typu patria veľké tepny (brušná aorta), v stredne veľkých tepnách sú tieto zložky v rovnováhe a malé tepny tvorí svalovina. Od tunica adventitia je oddelená vrstvou silných elastínových a kolagénových vlákien - membrana elastica externa. [7]

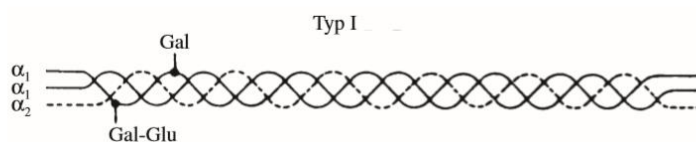
- **Tunica externa**

Tunica externa (adventitia) je vonkajšia vrstva cievy. Tvorí ju prevažne kolagénové vlákna a elastické vlákna, ktoré prechádzajú do väziva, čím tepnu fixujú k okoliu. [2] Obsahuje fibroplasty, nervy a býva prekrvovaná [7, 8]. Za normálnych podmienok sú kolagénové vlákna zvlhčené - neprenášajú zaťaženie.

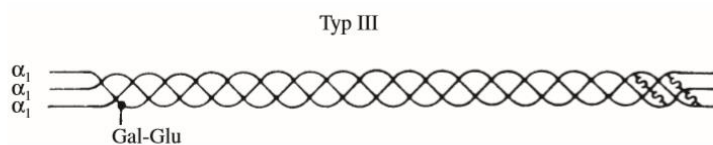
2.3 Kolagén

Kolagén je bielkovina, ktorá tvorí základnú stavebnú hmotu tkanív a dáva im pružnosť a pevnosť. Starnutím množstvo kolagénu v tkanivách klesá, čo možno voľne pozorovať na ľuďoch, napríklad ako vznik vrások. V súčasnosti poznáme 28 druhov kolagénu. U cicavcov tvoria kolagénové vlákna zväzky s priemerom 0,5 – 15 μm . Kolagén tvoria 3 ľavotočivé α -reťazce, ktoré obsahujú aminokyseliny, merajú približne 280 nm a spájajú sa do pravotočivej superšróbovice - fibrily. Jednotlivé typy kolagénov sa líšia týmito fibrilami. [9]

V tepnách sú najviac zastúpené kolagény typu I a III. Kolagén typu I (Obr. 4) je najrozšírenejší. Jeho fibrily s priemerom 75 nm sa spájajú do silných vlákien s priemerom 1 – 20 μm . Kolagén typu III (Obr. 5) je podobný typu I, jeho fibrily majú priemer 45 nm, tvoria tenké vlákna s priemerom 0,2 – 2 μm a vytvárajú retikulárnu sieť. Vlákna sú usporiadané menej pravidelne ako u kolagénu typu I. Pomer kolagénu typu I a typu III v tepne je približne 74 % k 26 %. [9]



Obr. 4 Schéma alfa reťazca kolagénu typu I [9]



Obr. 5 Schéma alfa-reťazca kolagénu typu III [9]

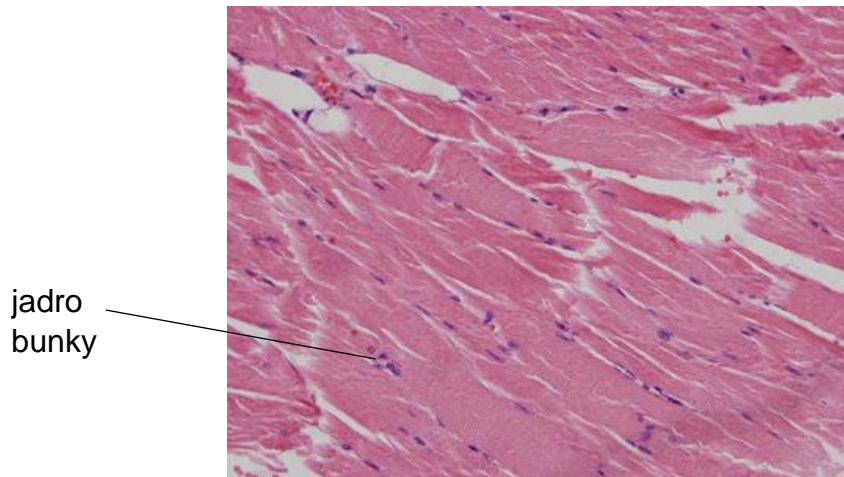
Kolagénové vlákna sú opticky anizotropné materiály, teda vykazujú dvojlom, čo využívame pri polarizačnej mikroskopii. [6]

2.4 Elastín

Elastín je vláknitá, vo vode nerozpustná bielkovina. Vyskytuje sa v cievach, šľachách, koži a dodáva tkanivám pružnosť a elasticitu. Elastín sa v ľudskom tele neprodukuje celý život, ale iba do dospelosti a počas rozpadu je 50-70 rokov. K jeho degradácii prispieva najmä zlá životospráva. [10] Ťažnosť elastínu je veľmi vysoká, až 130 % [7]

2.5 Bunky hladkej svaloviny

Vyznačujú sa vretenovitým tvarom, sú vyplnené cytoplazmou, v ktorej sa nachádza paličkové jadro (Obr. 6). Ich veľkosť sa líši podľa miesta výskytu. V stenách cievy majú dĺžku približne 20 μm a v stene maternice až 500 μm , čo predstavuje najväčšie bunky v ľudskom tele. [10]



Obr. 6 Bunky hladkej svaloviny. Každá bunka obsahuje jedno jadro. [11]

2.6 Šľachy

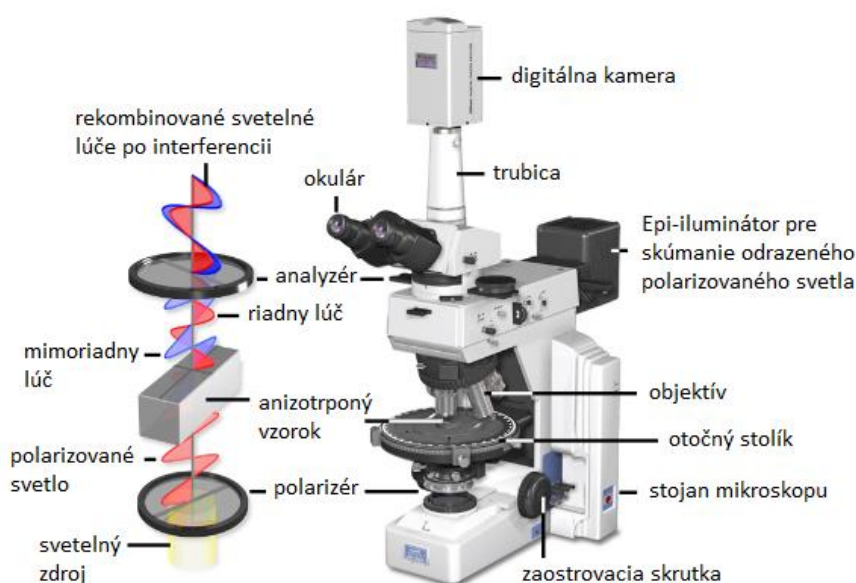
Táto práca sa bude zaoberať aj smerovým rozložením kolagénových vlákien v šľachách. Šľachy tvoria zväzky rovnobežných kolagénových vlákien a vytvárajú primárne zväzky. V nich sú rovnobežne uložené väzivové bunky – fibrocyty, ktoré sú stisknuté kolagénovými vláknami. Primárne zväzky tvoria sekundárne. Na sval sa napájajú dvoma spôsobmi. Buď priamo tak, že svalové vlákna priamo pokračujú do šľachy, alebo v ostrom uhle, kedy svalové vlákna nasadajú na šľachu. [1]

Patria medzi husté väzivá. Majú podpornú funkciu a slúžia na spojenie dvoch svalov a kostí. Napríklad Achillova šľacha spája trojhlavý lýtkový sval s chodidlovým svalom a pätnou kosťou, tým vymedzuje stupne voľnosti, teda obmedzuje pohyb. Medza pevnosti Achillovej šľachy vo veku 10 – 60 rokov je približne 56 MPa a pribúdajúcim vekom klesá. Modul pružnosti šľachy je rádovo v desiatkach [kPa], líši sa individuálne podľa jedinca. [1]

3 Polarizačná mikroskopia

Polarizačná mikroskopia sa najčastejšie využíva na pozorovanie organických a neorganických látok so stabilnou a pravidelnou štruktúrou, napríklad kryštály a vlákna. Tieto látky sú opticky anizotropné, teda vykazujú dvojlom. Biele svetlo je elektromagnetické vlnenie, kde vektory elektrickej intenzity kmitajú kolmo na vektory magnetickej indukcie, ale neusporiadane a chaoticky. V polarizovanom svetle vektory elektrickej intenzity kmitajú v jednej rovine a magnetickej indukcie v rovine na ňu kolmej.

Polarizačný mikroskop (Obr.7) sa skladá, okrem iného z dvoch filtrov - analyzátor a polarizátor. Polarizátor je vyrobený z materiálu, ktorý prepúšťa svetlo v jednej rovine, teda ho polarizuje a je uložený pred preparátom. Analyzátor sa nachádza v hornej časti mikroskopu pred okulárom, prípadne kamerou. Toto uloženie filtrov umožňuje svetlu pri prechode materiálom vykazujúcim dvojlom, rozdeliť sa na dva lúče - riadny a mimoriadny. Po prechode lúčov preparátom nastane ich fázový posun, prechodom cez analyzátor spolu interferujú buď konštruktívne alebo deštruktívne. Vtedy sa táto látka na obrazovke objaví svetlá - zvýraznená voči tmavému pozadiu alebo tmavá. [12, 13]



Obr. 7 Schéma polarizačného mikroskopu. Prevzaté a upravené z [14]

Pri príprave histologických rezov šliach a ciev sa vzorky farbía farbivom PicroSiriusRed, ktoré dokáže až 7x zvýrazniť dvojlomnosť kolagénových vlákien. [7]

4 Rešerš vedeckých článkov

Táto kapitola sa venuje súčasnému stavu poznania orientácie kolagénových vlákien z niekoľkých vedeckých článkov.

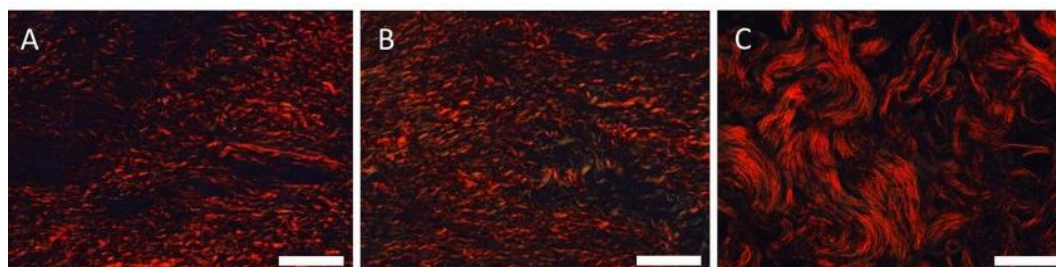
V článku Holzapfela a kol. [15] je priblížená stavba jednotlivých vrstiev tepny, a ich mechanické vlastnosti. Následne je určený nový spôsob popisu mechanickej odozvy, kde je tepna modelovaná ako hrubostenné valcové teleso zložené z dvoch vrstiev. Tieto vrstvy predstavujú tunica media a adventitia. Model je popísaný ako vláknový kompozit, kde vlákna predstavujú kolagén. Pre každú vrstvu sa požadujú 3 materiálové charakteristiky, čím umožňuje riešiť odozvu tepny pri kombinácii axiálneho zaťaženia, tlakového a krútiaceho.

Článok od Scheifla a kol. [16] popisuje použitie automatizovanej metódy na odčítanie orientácie kolagénových vlákien z 2D obrazov, ktoré neskôr spracováva pomocou rozdelenia von Mises na určenie rozmiestenia vlákien v tkanive. Na popis rozmiestnenia dvoch osnôv kolagénových vlákien používa rozdelenie zložené z dvoch funkcií von Mises. Práca bola zameraná na tri kľúčové parametre – parameter koncentrácie, uhol vlákna a parameter E_w , ktorý sa využíva, ak nie sú postačujúce priemerné hodnoty.

Polzer a kol. sa vo svojom článku [17] zaoberajú sa získavaním informácií o rozložení, keďže klasická rýchla Fourierová analýza (FFT) nedokáže zachytiť rozloženie vlákien, ale meria iba dominantné smery. Toto bolo dosiahnuté posilnením a renormalizovaním histogramu z FFT pri zachovaní jej výhod. FFT tiež nevie rozlíšiť rôzne druhy štruktúr, aj keď sa zobrazujú v rôznych farbách. Ďalej bola skúmaná kvalita popisu anizotropických štruktúr, kedy bolo rozloženie lepšie popísané pri použití dvoch rozdelení von Mises ako pri použití jedného.

Článok Nováka a kol. [18] sa zaoberá automatickým vyhodnotením smeru kolagénového vlákna v tkanive zo snímok histologických rezov z polarizačného mikroskopu. Automatický algoritmus získava dáta z digitálneho obrazu pomocou fázovej korelácie. Medzi najdôležitejšie výstupy algoritmu patrí stredná hodnota uhlu μ a rozptyl κ . Tento algoritmus je schopný riešiť natočenie v rozsahu $\theta \in \langle 0^\circ; 90^\circ \rangle$. Algoritmus sa vyvíja na Ústave mechaniky telies, mechatroniky a biomechaniky FSI VUT V Brne a v súčasnosti sa vylepšuje a rozširuje na použitie v rozsahu $\theta \in \langle 0^\circ; 180^\circ \rangle$. Tento algoritmus bude ďalej používaný v kapitole číslo 7.

Gaul a kol. predstavujú vo svojom článku [19] nedeštruktívnu metódu SALS (Small Angle Light Scattering), pomocou ktorej získava stavbu kolagénových vlákien v tkanive tepny. Dochádza k záveru, že v tunica intima a media sa nachádza jedna osnova kolagénových vlákien a v tunica adventitia dve osnovy. Merania sa uskutočňovali na neporušených srdcových aortách prasiat.



Obr. 8 Histologické rezy prasacích aort pod polarizovaným svetlom zafarbené farbivom Picrosirius Red, A - tunica intima, B - tunica media, C - tunica adventitia (mierka 50 μm), prevzaté z [19]

Tiež bola ukázaná podobnosť medzi tunica intima (Obr. 8 A) a tunica media (Obr. 8 B). Od týchto štruktúr sa najviac odlišuje tunica adventitia (Obr. 8 C)

Článok Hoffmana a kol. [20] sa zaoberá štúdiou, ktorá využíva jednoosové skúšky na určenie pevnosti srdcovej aorty človeka pre tunica adventitia, media a vzorky plnej hrúbky aorty. Bolo zistené, že tunica adventitia je značne tuhšia ako tunica media (Tabuľka 1).

Tabuľka 1 Hodnoty tuhosti pre rôzne časti tepny, prevzaté z [20]

Tkanivo	Smer zaťaženia	E [kPa]
Tunica adventitia	Axiálne	3570 ± 667
	Obvodovo	2960 ± 331
Tunica media	Axiálne	1070 ± 186
	Obvodovo	1800 ± 384
Plná hrúbka	Axiálne	1540 ± 186
	Obvodovo	1530 ± 389

Tieto merania je možné využiť pri rôznych modeloch tepien založených na vláknových kompozitoch.

5 Mechanické vlastnosti tepny

Táto kapitola sa zaoberá mechanickými vlastnosťami tepny, napríklad modul pružnosti, ktorý bude experimentálne určený z ťahových skúšok.

5.1 Ťahová skúška aorty

Skúška ťahom je základná mechanická skúška, z ktorej sa získava záznam sily a predĺženia vzorku. Z tejto odozvy sa prepočtom dostáva závislosť napätia pôsobiaceho v tepne a pomerného pretvorenia

$$\sigma = \frac{F}{S_0}, \quad (4.1)$$

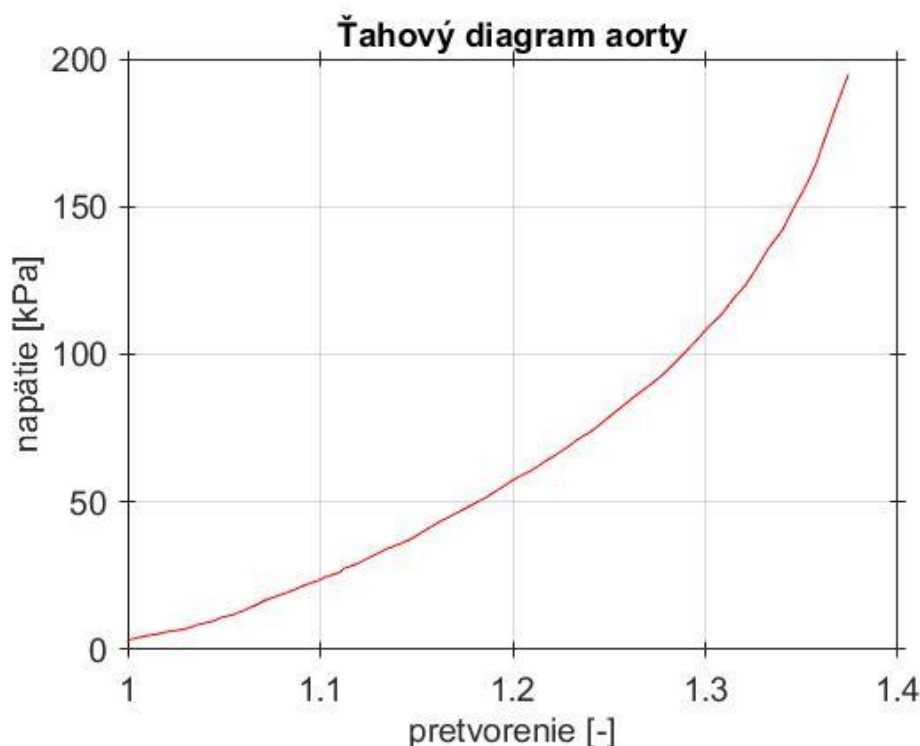
$$\varepsilon = \frac{\Delta l}{l_0}. \quad (4.2)$$

Na mechanické správanie tepien vplyvajú rôzne faktory, ako teplota, pH, parciálne tlaky CO_2 a O_2 , preto sa skúška vykonáva v okysličenom slanom roztoku pri určitej teplote a dbá sa, aby bola tepna čo najčerstvejšia [22]. Výrazným faktorom je vek a zdravotný stav jedinca ako je ukázané v článku od Imura [23], kde bolo na brušných aortách ľudí troch vekových skupín zistené, že modul pružnosti sa výrazne mení ich vekom (Tabuľka 2).

Tabuľka 2 Inkrementálny modul pružnosti pre brušnú aortu ľudí rôznych vekových kategórií [23]

Veková kategória	E_{ink} [kPa]
Mladí dospelí	99 ± 34
Stredný vek	155 ± 68
Starí dospelí	380 ± 205

Preto pri experimentálnom určení modulu pružnosti v ďalšom odseku získame pomerne veľký rozptyl hodnôt.



Obr. 9 Ťahový diagram s výrazným spevnením počas postupného zapájania kolagénových vlákien. Získané z experimentu na prasacej aorte

Pre zdravé tepny je typická veľká deformácia a nelineárna odozva s výrazným spevnením pri zvyšujúcom sa zaťažení. Tento efekt je spôsobený postupným zapájaním rôznych štruktúr v stene tepny. Na začiatku zaťažovania, keď je tepna najpoddajnejšia sa zapája hlavne elastín, odozva je približne lineárna a kolagénové vlákna ostávajú zvlnené. V ďalšej fáze zaťažovania začína spevňovanie, kolagénové vlákna sa mierne narovnávajú. V poslednej časti vidno najvýraznejšie spevnenie tepny. Za toto spevnenie môžu kolagénové vlákna, ktoré sú už úplne narovnané. Výsledkom je ťahový diagram (Obr. 9) s výrazným spevnením. [15]

5.2 Určenie modulu pružnosti aorty v ťahu

V tejto časti sa bude experimentálne určovať modul pružnosti v ťahu z ťahových skúšok prasacej aorty 14 jedincov, ktoré boli získané pri axiálnom a obvodovom zaťažení.

Pri meraní dochádza k veľkým nepresnostiam, keďže sa jedná len o malé posuvy a používané prístroje vykazujú chyby. Preto sa najskôr namerané diagramy „vyhladia“ kĺzavým priemerom

$$\sigma_i = \frac{\sigma_{i-1} + 2\sigma_i + \sigma_{i+1}}{4} \quad (4.3)$$

Následne sa odčíta modul pružnosti E_1 v prvej fáze. V úvode tejto kapitoly bolo spomenuté, že prvá fáza je približne lineárna, preto E_1 je odčítané z bodu, do ktorého je priebeh ešte lineárny. Tento bod je charakterizovaný hodnotami napätia σ_{lin} a pretvorenia ε_{lin} a určíme E_1 zo vzťahu

$$E_1 = \frac{\sigma_{lin} - \sigma_1}{\varepsilon_{lin} - \varepsilon_1}. \quad (4.4)$$

Ďalej sú odčítané konečné hodnoty napätia σ_f a pretvorenia ε_f a určený modul pružnosti v ťahu v poslednej fáze E_2 , kedy sú kolagénové vlákna zapojené maximálne. Tento modul získame

$$E_2 = \frac{\sigma_f - \sigma_1}{\varepsilon_f - \varepsilon_1}. \quad (4.5)$$

E_1 a E_2 sa počíta ako rozdiel koncových a počiatočných hodnôt, lebo začiatok odozvy sa nenachádza v počiatku súradnicového systému, ale je mierne posunutý kvôli zvyškovému napätiu.

Hodnoty E_2 by mali byť rádovo $10^4 - 10^5$ kPa, [7].

5.3 Namerané hodnoty

Výsledky merania ťahových skúšok prasacích aort meraných pri axiálnom a obvodovom zaťažení sú zapísané v tabuľke 3, na konci ktorej sú uvedené priemerné hodnoty získané aritmetickým priemerom

$$\bar{E} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n E_i, \quad (4.6)$$

a výberová smerodajná odchýlka

$$\sigma(\bar{E}) = \sqrt{\frac{1}{n(n-1)} \sum_{i=1}^n (E_i - \bar{E})^2}. \quad (4.7)$$

Tabuľka 3 Namerané hodnoty E

	Obvodové zaťaženie		Axiálne zaťaženie	
	E_{1t} [kPa]	E_{2t} [kPa]	E_{1a} [kPa]	E_{2a} [kPa]
Spec 1	163,93	1733,20	195,24	1451,90
Spec 2	170,31	1583,50	184,48	1405,60
Spec 3	208,70	2331,00	124,58	2278,50
Spec 4	274,14	1913,60	115,48	2110,60
Spec 5	149,63	12414,00	201,79	684,84
Spec 6	160,00	5830,20	131,71	1490,90
Spec 7	139,35	2119,60	140,34	4500,90
Spec 8	158,67	3867,90	114,62	1985,90
Spec 9	182,98	2533,50	170,83	5400,00
Spec 10	198,28	2739,10	97,06	2248,40
Spec 11	158,33	1401,20	156,10	979,92
Spec 12	163,83	3393,90	157,24	1659,30
Spec 13	158,82	2224,40	121,88	1105,80
Spec 14	110,29	1427,70	221,55	1194,70
priemer	171,23 ± 36,62	3250,91 ± 2785,04	152,35 ± 36,44	2035,52 ± 1287,19

5.4 Parameter anizotropie

V úvode práce bolo spomenuté, že stavbu steny tepny tvoria rôzne štruktúry. Tiež boli popísané jej rôzne vrstvy a ako sa od seba líšia [19], teda možno tvrdiť, že tepna je anizotropný materiál - jeho vlastnosti sa líšia podľa smeru, v ktorom ich určujeme. Aby mohla byť anizotropia kvantifikovaná, bude zavedený pre tepny z predchádzajúcej časti parameter anizotropie k_A [–], definovaný ako pomer modulu pružnosti v axiálnom smere E_a [kPa] a modulu pružnosti v obvodovom smere E_t [kPa]

$$k_A = \frac{E_a}{E_t}. \quad (4.8)$$

Vždy sa porovnáva modul pružnosti zistený z rovnakých miest deformačne-napät'ovej krivky. Pre izotropný materiál (materiál s rovnakými vlastnosťami v každom smere) je parameter anizotropie $k_A = 1$, pre anizotropný $k_A \neq 1$. Vypočítané hodnoty sú zapísané v tabuľke 4 a priemer je spočítaný pomocou rovnice (4.6)

Tabuľka 4 Parametre anizotropie pre jednotlivé vzorky prasacej aorty

	$k_{A1} [-]$	$k_{A2} [-]$
Spec 1	1,19	0,84
Spec 2	1,08	0,89
Spec 3	0,60	0,98
Spec 4	0,42	1,10
Spec 5	1,35	0,06
Spec 6	0,82	0,26
Spec 7	1,01	2,12
Spec 8	0,72	0,51
Spec 9	0,93	2,13
Spec 10	0,49	0,82
Spec 11	0,99	0,70
Spec 12	0,96	0,49
Spec 13	0,77	0,50
Spec 14	2,01	0,84
priemer	$0,95 \pm 0,39$	$0,87 \pm 0,58$

Výsledok parametrov anizotropie, $k_A \neq 1$, potvrdil, že tepny skutočne sú anizotropným materiálom.

5.5 Porovnanie mechanických vlastností tepien

V článku [24] sa Laurent a kol. zaoberá inkrementálnym modulom pružnosti aorty zdravého človeka a človeka trpiacim vysokým krvným tlakom. Pre zdravého človeka boli zistené hodnoty $E_{ink} = 2680 \pm 1810$ kPa pri zaťažení v obvodovom smere. V ďalšej štúdi [26] sa uvádza hodnota pre srdcovú aortu človeka v obvodovom smere $E = 1530 \pm 389$ kPa. Je viditeľné, že pri meraniach sa často nadobúda veľmi veľkých hodnôt rozptylu, ktoré sú často štatisticky nevýznamné a nie je možné ich správne porovnať.

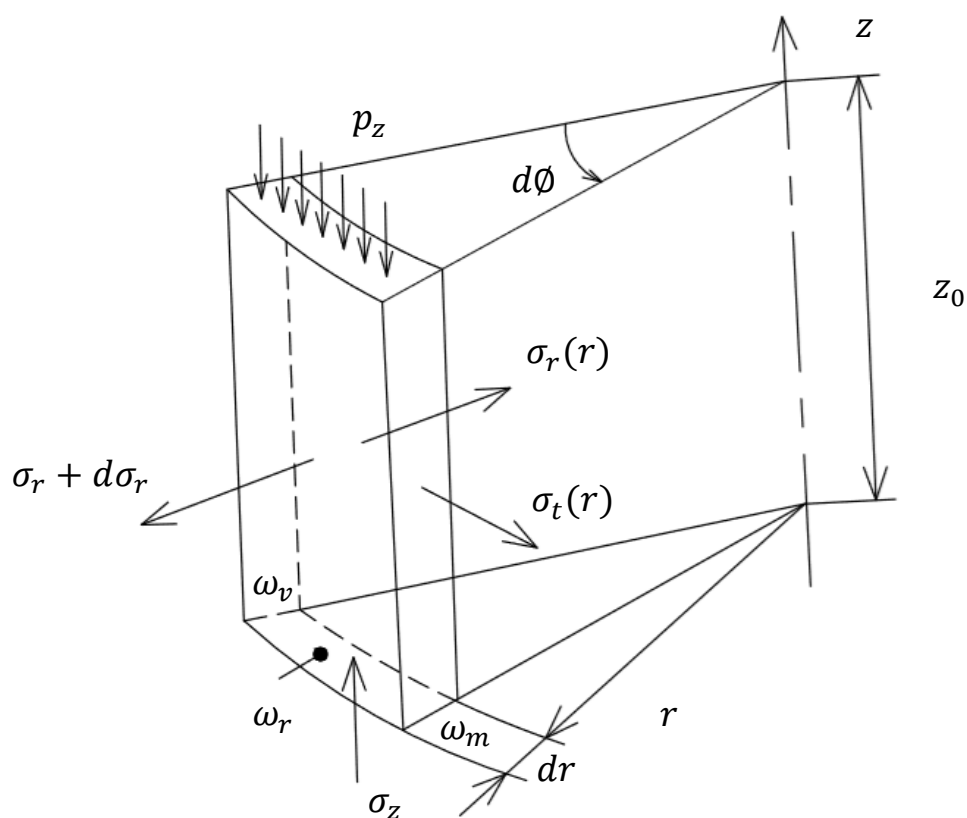
Rozdiely sú spôsobené individuálnym zdravotným stavom a vekom pacienta, preto nemožno jednotne zadefinovať presnú hodnotu modulu pružnosti. Tento jav je ukázaný v rôznych štúdiach, napríklad Hoffman a kol. [20] alebo Imura a kol. [23], Zavedený parameter anizotropie popisuje mieru odlišnosti mechanických vlastností v závislosti na smere, v ktorom boli merané.

6 Výpočet napätia v stene tepny

V tejto kapitole bude určené napätia a posuvy steny pri zaťažení tlakom krvi. Predpokladom je, že tepna je nestlačiteľná, homogénna valcová nádoba s konštantnou hrúbkou steny. K problému sa pristupuje dvomi spôsobmi, keď je tepna pokladaná za hrubostenné valcové teleso alebo za tenkostennú bezmomentovú škrupinu. Definície a vzorce sú prevzaté z [21].

6.1 Hrubostenné valcové teleso

Ide o špeciálny prípad axiálne symetrického telesa, ktoré má nezanedbateľnú hrúbku steny proti priemeru. Zaťaženie je vyvolané osovo symetrickým tlakom na stenu, v našom prípade tlakom krvi na stenu tepny. Výstupom je teda trojosová napätosť v radiálnom (r), tangenciálnom (t) a osovom smere (z).



Obr. 10 Uvoľnený prvok valcového telesa prevzaté a upravené z [21]

$$\sigma_t = A + \frac{B}{r^2} + \lambda \varepsilon_z, \quad (4.9)$$

$$\sigma_r = A - \frac{B}{r^2} + \lambda \varepsilon_z, \quad (4.10)$$

$$\sigma_z = 2\mu A + (2G + \lambda)\varepsilon_z, \quad (4.11)$$

Kde A a B sú integračné konštanty, G [kPa] je modul pružnosti v smyku, λ [kPa] je Lamého konštantu

$$G = \frac{E\mu}{2(1+\mu)} \quad (4.12)$$

$$\lambda = \frac{\mu E}{(1+\mu)(1-2\mu)} \quad (4.13)$$

a pre posunutie u platí

$$u = \varepsilon_r r = \frac{r}{E} (\sigma_r - \mu(\sigma_t + \sigma_z)). \quad (4.14)$$

V tomto prípade je riešená hrudní aorta s parametrami [7]

$$E = 300 \text{ kPa},$$

$$\mu = 0,49,$$

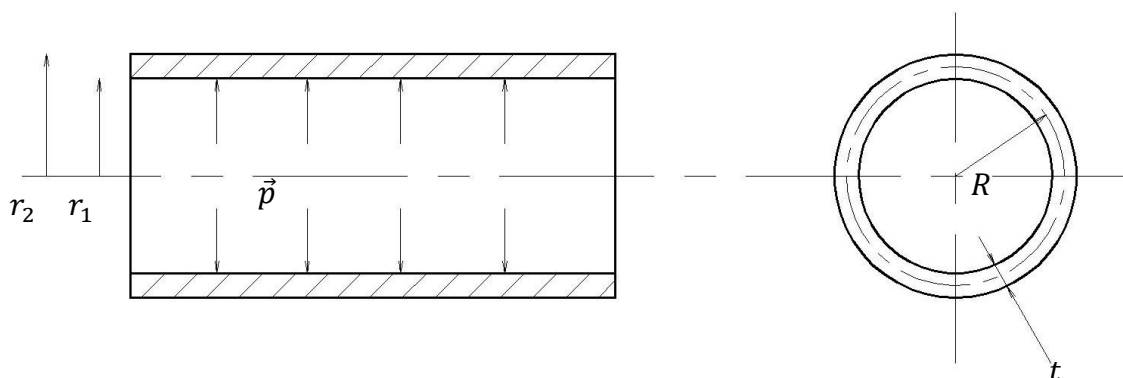
Vonkajší polomer a hrúbka steny

$$r_2 = 10 \text{ mm},$$

$$t = 2 \text{ mm}.$$

Tepna je zaťažená systolickým tlakom

$$p = 120 \text{ mmHg} = 16 \text{ kPa}.$$



Obr. 11 Zadané parametre tepny

Tepna je valcové teleso bez dna, teda σ_z je nulové

$$\sigma_z = 0 \quad (4.15)$$

Okrajové podmienky podľa Obr.11 sú

$$r = r_1, \sigma_r = -p, \quad (4.16)$$

$$r = r_2, \sigma_r = 0. \quad (4.17)$$

Po dosadení do rovnice (4.14) dostaneme sústavu rovníc

$$-p = A - \frac{B}{r_1^2} + \lambda \varepsilon_z, \quad (4.18)$$

$$0 = A - \frac{B}{r_2^2} + \lambda \varepsilon_z, \quad (4.19)$$

$$\sigma_z = 2\mu A + (2G + \lambda)\varepsilon_z, \quad (4.20)$$

odkiaľ sú vyjadrené integračné konštanty a pretvorenie v ose z ε_z . Získame 3 rovnice a 3 neznáme, ktoré sú vypočítané pomocou Matlabu

$$A = 487 \text{ kPa}, \quad (4.21)$$

$$B = -2844 \text{ kPa} \cdot \text{mm}^2. \quad (4.22)$$

$$\varepsilon_z = 0,09 \text{ mm} \quad (4.23)$$

Veľkosti radiálneho a tangenciálneho napätia na polomere r_1 sú

$$\sigma_{r1} = -16 \text{ kPa},$$

$$\sigma_{t1} = 73 \text{ kPa}.$$

Posuv (4.12) na polomere r_1 je

$$u_1 = -1,38 \text{ mm} \quad (4.24)$$

A napätia a posuvy na polomere r_2 sú

$$\sigma_{r2} = 0 \text{ kPa},$$

$$\sigma_{t2} = 57 \text{ kPa}.$$

$$u_2 = 0,74 \text{ mm}$$

Pre splnenie podmienky malých deformácií, je potrebné, aby posuvy boli dostatočne malé voči rozmerom telesa, teda pretvorenie $\varepsilon < 1\%$. V prípade tepny, keď uvažujeme, že vnútorný polomer bez zaťaženia r_1 sa pôsobením tlaku krvi zväčšil o u_1 a pretvorenie je

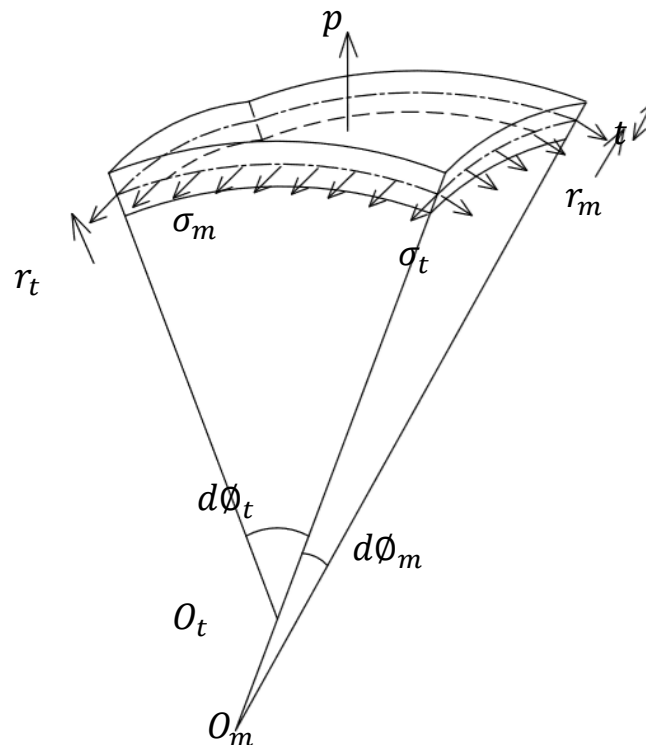
$$\varepsilon_1 = \frac{u_1}{r_1} \cdot 100\% = 17\%,$$

A pretvorenie na polomere r_2 je

$$\varepsilon_2 = \frac{u_2}{r_2} \cdot 100\% = 7\%.$$

6.2 Bezmomentová škrupina

Je tenkostenné teleso definované stredným polomerom R a hrúbkou steny t , ktorá je oveľa menšia ako polomer $t \ll R$.



Obr. 12 Uvoľnený prvok bezmomentovej škrupiny, prevzaté a upravené z [21]

Pre bezmomentovú škupinu podľa Obr.12 platí Laplaceova rovnica

$$\frac{\sigma_m}{r_m} + \frac{\sigma_t}{r_t} = \frac{p}{t}, \quad (4.25)$$

kde σ_m a σ_t sú osovú napätia, r_m a r_t sú polomery krivosti a t hrúbka steny.

Pre daný prípad s tepnou, budeme uvažovať valcovú škupinu a platia pre ňu parametre - stredný polomer R , hrúbka steny t a zaťaženie systolickým tlakom p

$$R = 9 \text{ mm},$$

$$t = 2 \text{ mm},$$

$$p = 16 \text{ kPa},$$

Hodnoty polomerov v meridiánovom a tangenciálnom smere sú

$$r_t = R, \quad (4.26)$$

$$r_m = \infty. \quad (4.27)$$

Dosadením do (4.25) a vyjadrením tangenciálneho napätia dostaneme

$$\sigma_t = \frac{p \cdot R}{t} = 72 \text{ kPa}. \quad (4.28)$$

Pre pretvorenie v tangenciálnom smere z Hookovho zákona platí

$$u = \frac{r_t}{E} (\sigma_t - \mu \sigma_m). \quad (4.29)$$

Po dosadení jednotlivých polomerov (4.26), (4.27) a vypočítaných hodnôt získame pretvorenie v tangenciálnom smere

$$u = 2,16 \text{ mm} \quad (4.30)$$

Overenie podmienky malých deformácií $\varepsilon < 1\% R$

$$\varepsilon = \frac{u}{R} \cdot 100\% = 24\%. \quad (4.31)$$

6.3 Zhodnotenie

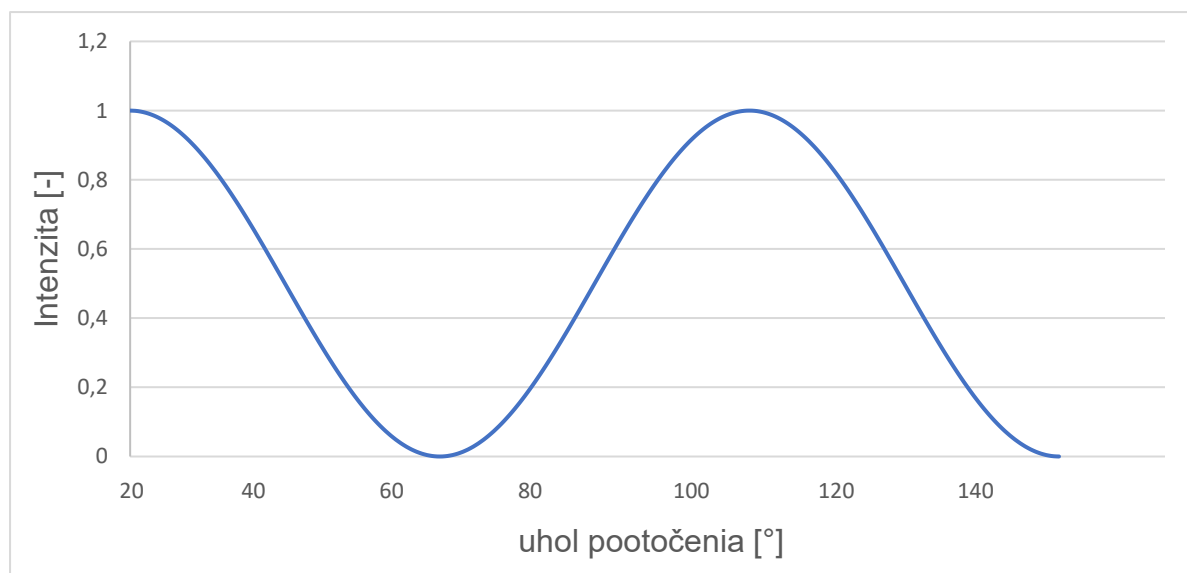
V tejto kapitole sme bolo určené napätie v stene tepny. Pri prvom spôsobe sme uvažovali, že tepna je valcové teleso a do výpočtu bola zahrnutá aj jej hrúbka. Výstupom boli hodnoty radiálneho a tangenciálneho napätia na vonkajšom a vnútornom polomere, ktoré sa od seba výrazne líšili. Následne bolo určené napätie v stene pri zanedbaní jej hrúbky - považovali sme ju za bezmomentovú škrupinu. Rozdiel medzi výslednými napätiami je zanedbateľný a omnoho podstatnejšie nelineárne chovanie. Lineárna pružnosť a pevnosť je obmedzená malým pretvorením $\varepsilon < 1\%$, zatiaľ čo výsledky pre tepnu výrazne prevyšovali túto hodnotu.

7 Analýza smeru kolagénových vlákien

V kapitole 5 sme popísali parametre anizotropie tepny. Pre popis anizotropného chovania je potrebné určiť usporiadanie vlákien v stene tepny [15]. V tejto kapitole budeme pozorovať histologické vzorky z prasacích Achillových šliach a prasacej aorty na polarizačnom mikroskope a následne budeme ručne merať lokálne uhly vlákien a získané histogramy prevádzať na parametre rozdelenia Von Mises vyhodnocovať snímky. Výsledky porovnáme s rozšíreným algoritmom Nováka a kol. [8].

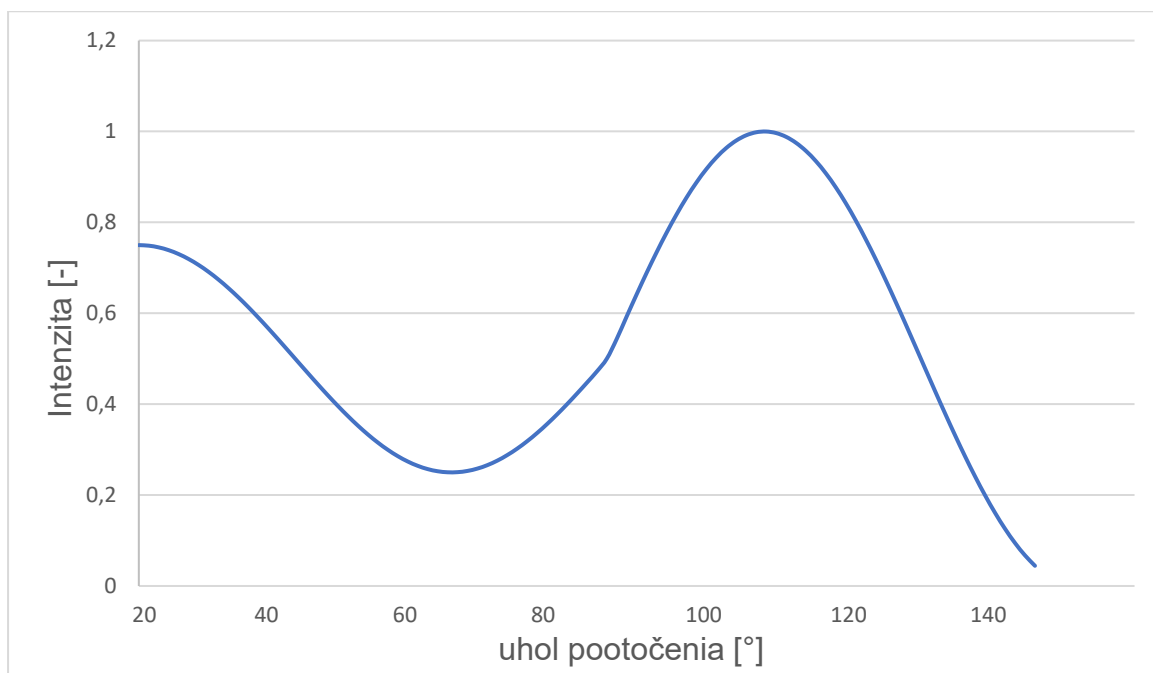
7.1 Postup merania

Histologickú vzorku zvýraznenú farbivom PicroSiriusRed umiestnime pod objektív polarizačného mikroskopu. Analyzátor a polarizátor nastavíme do základnej polohy bez vychýlenia, vyberieme vhodné miesto, zaostríme a vycentrujeme tak, aby stred otáčania vzorku bol totožný so stredom obrazu kamery. Zhotovíme 18 snímok, pričom každú pootočíme o 10° . Takto dostaneme prvú sadu snímok.



Obr. 13 Prvá sada snímok (výber) prasacej Achillovej šľachy bez vychýlenia analyzátoru s modelovým znázornením zmeny intenzity obrazu pre vybrané snímky

Pri druhej sade vychýlime analyzátor voči polarizátoru o 30° a pokračujeme ako pri prvej sade snímok.



Obr. 14 Druhá sada snímkov (výber) šľachy pri vychýlení analyzátoru a idealizovaný model priebehu intenzity pre vybrané snímky

Tieto dve sady sú vstupmi do algoritmu na určenie smeru kolagénových vlákien [8]. Algoritmus hľadá uhol natočenia vlákna, ktorý je totožný s uhlom vyhasnutia vlákna. Na vyhotovených snímkach vidíme ako obraz striedavo stmavne a rozjasní sa postupným otáčaním vzorky. Tak dostávame krivku blížiacu sa sínusoide, ktorá má pri prvej sade dve maximá a dve minimá (Obr.13). Uhol natočenia určuje o koľko [°] je daná snímka pootočená voči prvej snímke na obrázku 13.

Z tohto grafu sa nedá určiť, ktoré maximum popisuje správny uhol natočenia vlákna. Na určenie správneho maxima slúži druhá sada, kde vďaka vychýleniu analyzátoru bude jedno minimum výraznejšie (Obr. 14) ako druhé. Minimum, ktoré zodpovedá uhlu natočenia vlákna je to pred výraznejším maximom.

Týmto spôsobom sme získali vstupy pre algoritmus. Na jeho verifikovanie je potrebné zistiť uhol natočenia vlákna rovnakým spôsobom, ale manuálne. Vyberieme si určitý snímok a rozdelíme ho na približne 100 štvorcov a v každom odmeriame uhol natočenia. Z nameraných hodnôt zostavíme histogramy a aproximujeme funkciou Von Mises.

7.2 Rozdelenie Von Mises

Distribučná funkcia na (jednotkovej) kružnici $\rho(\theta)$ určuje pravdepodobnosť rozdelenia na intervale $\theta \in \langle 0; 2\pi \rangle$. Je definovaná

$$\rho(\theta) = \frac{e^{\kappa \cos(\theta - \mu)}}{2\pi I_0(\kappa)},$$

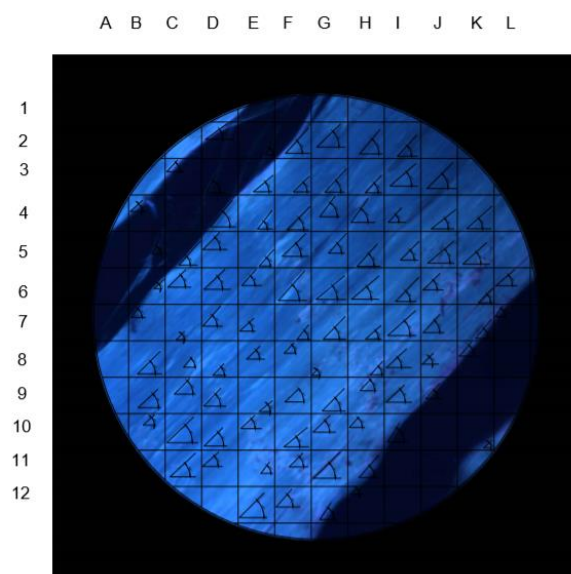
kde μ je hlavný smer rozdelenia (stredná hodnota), okolo ktorého je funkcia koncentrovaná. Parameter $\kappa \in \langle 0; \infty \rangle$ udáva túto koncentráciu (mieru smerového rozptylu). Ak sa parameter κ blíži k nule, ide o izotropné chovanie, ak naopak rastie, ide o anizotropné. V prípade, že dosiahne nekonečno, boli by všetky vlákna orientované v jednom smere bez rozptylu. $I_0(\kappa)$ je modifikovaná Besselova funkcia nultého rádu definovaná [25]

$$I_0(\kappa) = \sum_{i=0}^{\infty} \frac{\kappa^{2i}}{2^{2i} (i!)^2}.$$

7.3 Výsledky merania rovných vlákien

Pre verifikáciu sme použili umelo natočené vzorky, ktoré vystihnú rozsah $\theta \in \langle 0^\circ; 180^\circ \rangle$. Po verifikácii algoritmu sa výskum pani Ing. Michaely Turčanovej bude zameriavať na korektné určenie orientácie vlákien voči rezu vedeného pri príprave vzorku a polohe na histologickom sklíčku.

Pri verifikácii budeme vyhodnocovať dva snímky prasacích Achillových šliach s rovnými vláknami usporiadanými v jednom smere a jednu so zvlhnenými kolagénovými vláknami a vzorku odobratú z prasacej aorty.



Obr. 15 Snímok šľachy A s nameranými hodnotami

Ako prvý posúdime snímok A, kde uhol natočenia vlákna leží v intervale $\theta \in \langle 0^\circ; 90^\circ \rangle$. Snímok rozrežeme na približne 100 dielov a v každom určíme smer vlákna (Obr. 15). Namerané hodnoty v $^\circ$ zapíšeme do tabuľky 6.

Tabuľka 5 Namerané hodnoty pre snímok A

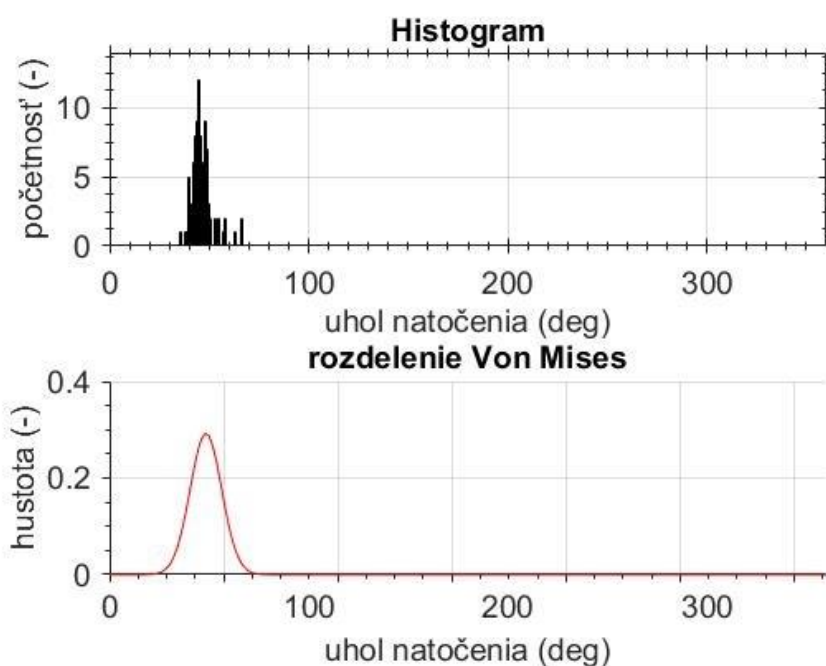
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	36	66	48	44	50	47	-	-	-
3	-	-	47	63	40	44	47	47	41	45	-	-
4	-	42	-	50	53	45	54	55	48	38	42	-
5	-	66	48	46	48	44	48	48	45	40	42	-
6	-	43	44	44	49	48	40	40	46	45	46	41
7	-	55	45	49	43	51	46	41	42	47	51	57
8	-	45	50	46	44	46	49	48	43	45	49	-
9	-	43	45	46	39	43	45	47	43	48	-	-
10	-	42	44	45	43	40	44	49	58	-	-	-
11	-	-	43	42	53	45	44	49	-	-	-	-
12	-	-	-	-	45	49	58	46	-	-	-	-

Z nameraných hodnôt zhotovíme histogramy (Graf 1) a preložíme funkciou Von Mises, ktorej výstupom je hlavný smer rozdelenia μ_A

$$\mu_A = 48^\circ$$

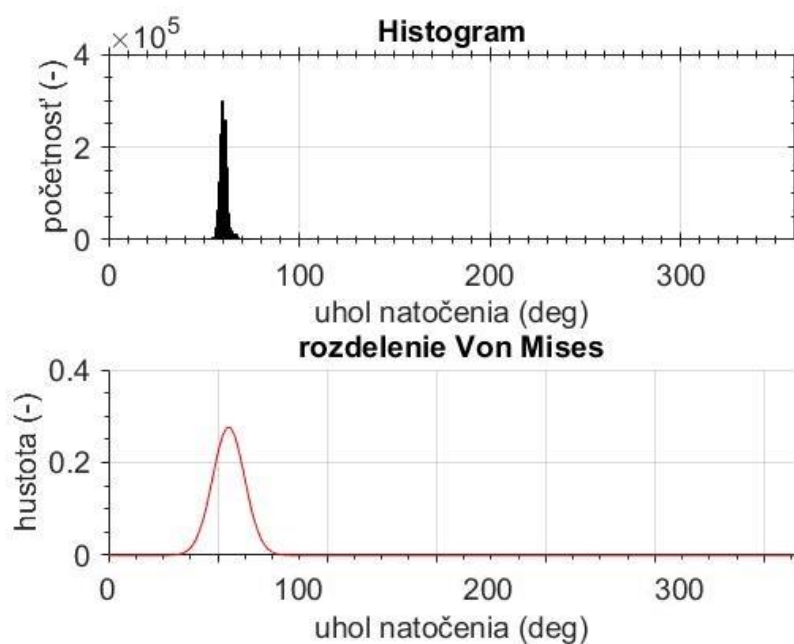
a parameter koncentrácie κ_A

$$\kappa_A = 53$$



Graf 1 Vyhodnotenie smeru kolagénových vlákien vo vzorke A

Následne použijeme príslušné sady snímkov k vyšetrovanému miestu ako vstup do algoritmu Nováka a kol [18]. Výstupom je histogram (Graf 2) a ďalšie parametre. Aby sme mohli vzájomne porovnať tieto výsledky s našimi ručne odmeranými, musíme výsledné hodnoty prepočítať funkciou Von Mises.



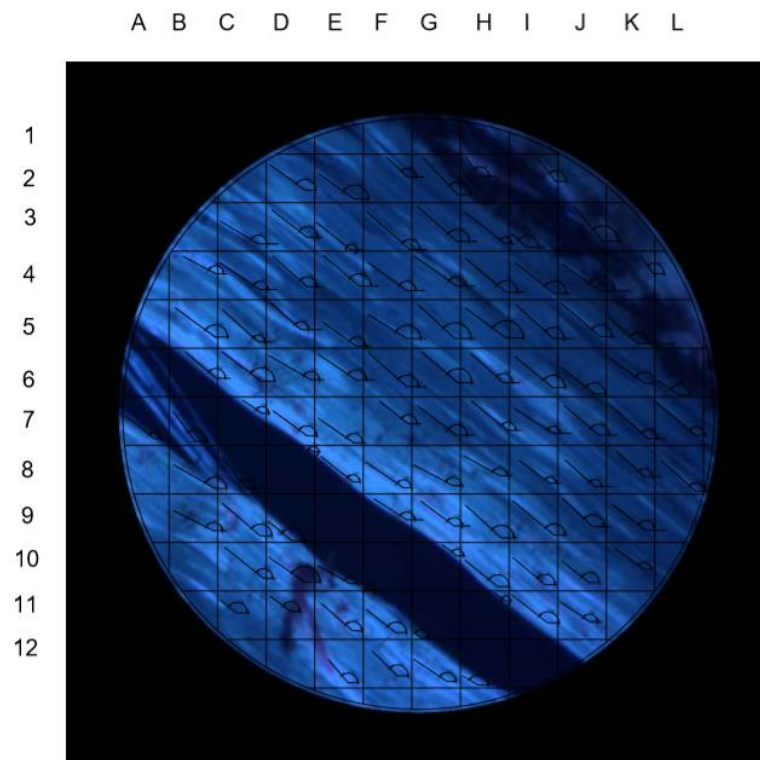
Graf 2 Vyhodnotenie smeru kolagénových vlákien z dát získaných pomocou algoritmu [18] pre vzorku A

Z rozdelenia Von Mises môžeme určiť parametre μ_A' a κ_A' pre dáta získané automatickým algoritmom

$$\mu_A' = 62^\circ$$

$$\kappa_A' = 47$$

Ďalej budeme posudzovať snímok B (Obr. 16), ktorého uhol natočenia leží v intervale $\theta \in \langle 90^\circ; 180^\circ \rangle$. Tým môžeme verifikovať rozšírenú verziu pôvodného algoritmu práve o tento interval.



Obr. 16 Snímka B šľachy s nameranými hodnotami

Hodnoty jednotlivých uhlov v [°] sú zapísané v Tabuľke 7

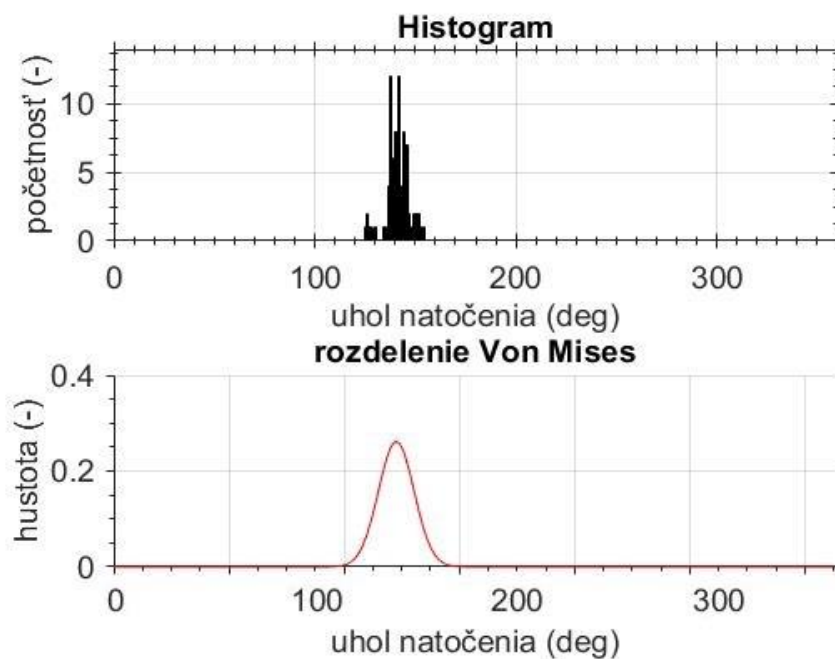
Tabuľka 6 Namerané hodnoty pre snímok B

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	144	145	137	134	125	128	-	-	-
3	-	-	149	142	142	139	139	142	137	129	-	-
4	-	152	146	138	139	144	145	140	142	145	126	-
5	-	144	138	138	145	148	137	144	138	140	138	-
6	-	139	143	150	146	138	140	138	141	141	144	146
7	140	126	146	144	145	142	143	141	147	139	138	141
8	-	150	127	140	142	146	152	151	143	138	138	138
9	-	153	140	141	-	147	143	138	140	137	142	-
10	-	-	141	145	151	154	142	141	140	142	144	-
11	-	-	142	144	139	142	141	145	142	146	-	-
12	-	-	-	-	130	135	146	149	-	-	-	-

Z nameraných hodnôt zostavíme histogram (Graf 3) a preložíme funkciou von Mises, ktorej parametre sú

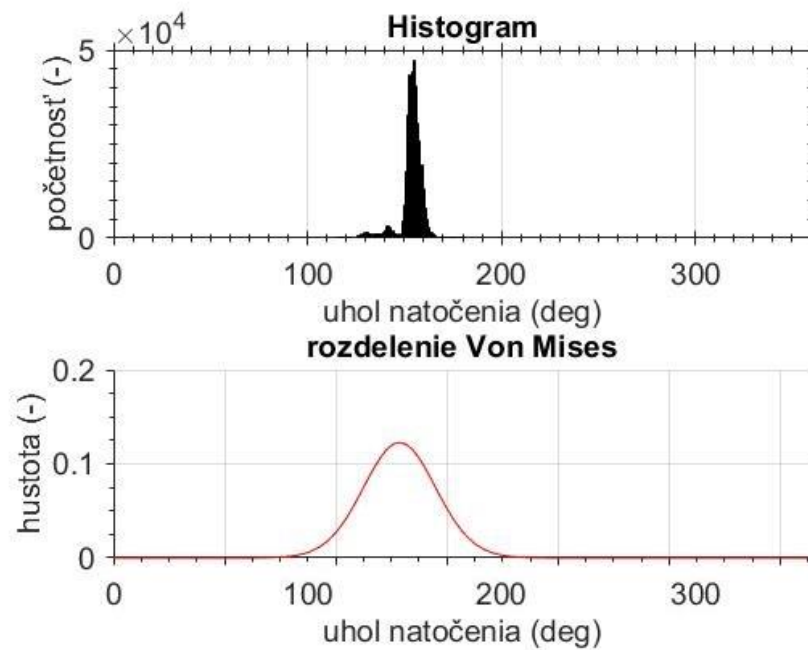
$$\mu_B = 140^\circ$$

$$\kappa_B = 42$$



Graf 3 Vyhodnotenie smeru kolagénových vlákien vo vzorke B (Achillova šľacaha z prasaťa)

Na vzorku aplikujeme rozšírený algoritmus [18], získané dáta spracujeme do histogramov (Graf 4) a určíme parametre rozdelenia Von Mises



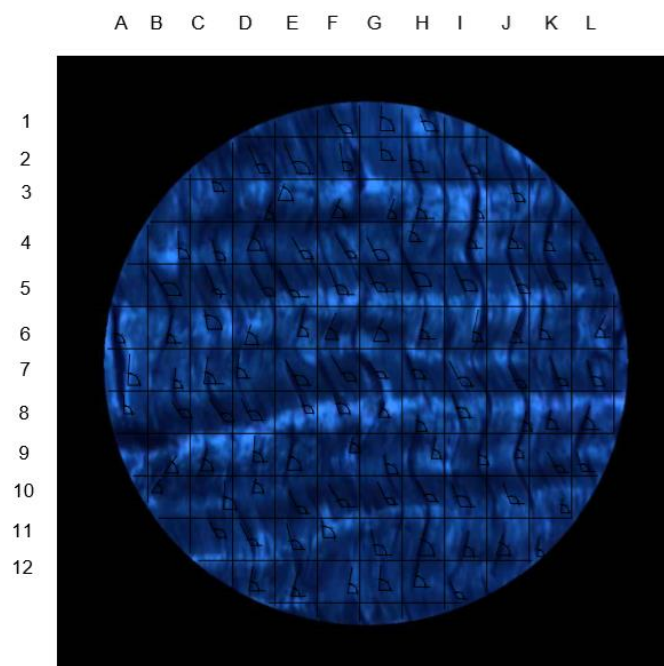
Graf 4 Vyhodnotenie smeru kolagénových vlákien z dát získaných pomocou rozšíreného algoritmu [18] pre vzorku B

$$\mu_B' = 147^\circ$$

$$\kappa_B' = 9,5$$

7.4 Výsledky merania zvlnených vlákien

Ďalej sa budeme venovať analýze zvlnených kolagénových vlákien. Budeme posudzovať snímku prasacej Achillovej šľachy (Obr. 17), ktorá je zvlnená a namerané hodnoty budú v intervale $\theta \in \langle 0^\circ; 180^\circ \rangle$, čo je spojenie oboch prípadov z predchádzajúceho odseku.



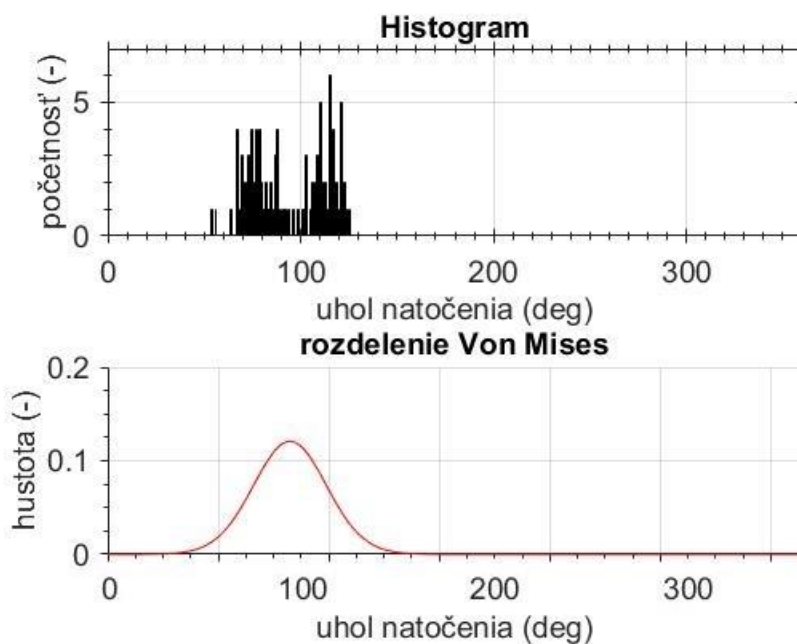
Obr. 17 Snímka C s nameranými hodnotami

Namerané hodnoty v $[\circ]$ sú zapísané v Tabuľke 8

Tabuľka 7 Namerané hodnoty pre snímku C

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
1	-	-	-	-	-	121	88	110	-	-	-	-
2	-	-	-	121	88	110	121	88	110	-	-	-
3	-	-	96	68	70	67	71	76	85	103	-	-
4	-	92	103	67	119	120	115	75	73	75	80	113
5	-	123	111	119	115	109	114	115	115	112	116	108
6	91	78	99	73	76	67	67	78	79	70	83	64
7	87	85	82	84	117	122	123	110	118	115	110	106
8	90	125	124	117	109	105	70	82	108	78	77	71
9	-	54	75	87	77	77	101	79	89	73	117	106
10	-	56	88	77	115	121	116	121	109	111	87	-
11	-	-	117	116	103	94	102	75	79	74	85	-
12	-	-	-	81	74	80	86	79	113	-	-	-

Z nameraných hodnôt zhotovíme histogram a preložíme funkciou Mises (Graf 5)

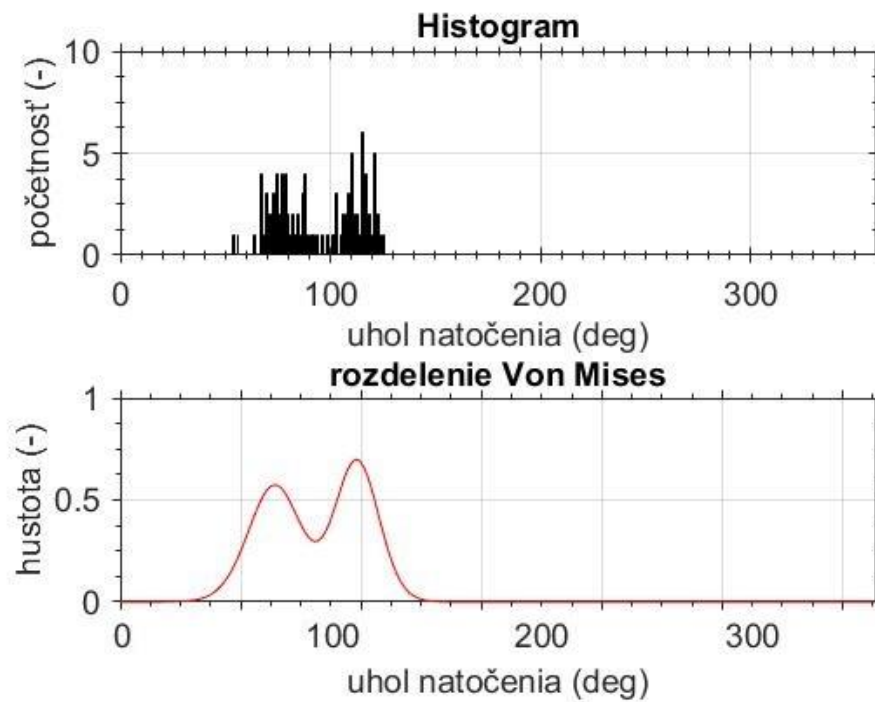


Graf 5 Vyhodnotenie smeru kolagénových vlákien na vzorke C (Achillova šľacha prasťa)

Ako môžeme vidieť na grafe 5, funkcia Von Mises neopisuje správne histogram s nameranými hodnotami. Preto je potrebné algoritmus na výpočet von Misesovej funkcie modifikovať. Nemôžeme počítať iba s jednou funkciou, ale s dvoma, ktoré sčítame [16] a dostaneme

$$\rho_{mix}(\theta) = \rho_1(\theta) + \rho_2(\theta) = \frac{e^{\kappa_1 \cos(\theta - \mu_1)}}{2\pi I_0(\kappa_1)} + \frac{e^{\kappa_2 \cos(\theta - \mu_2)}}{2\pi I_0(\kappa_2)}.$$

Prepočítaním získame priebeh s dvomi maximami (Graf 6).



Graf 6 Vyhodnotenie smeru kolagénových vlákien vo vzorke C (Achillova šľacha z prasaťa)

Tak dostaneme charakteristiky pre obe maximá - dva parametre koncentrácie a dva hlavné smery rozdelenia

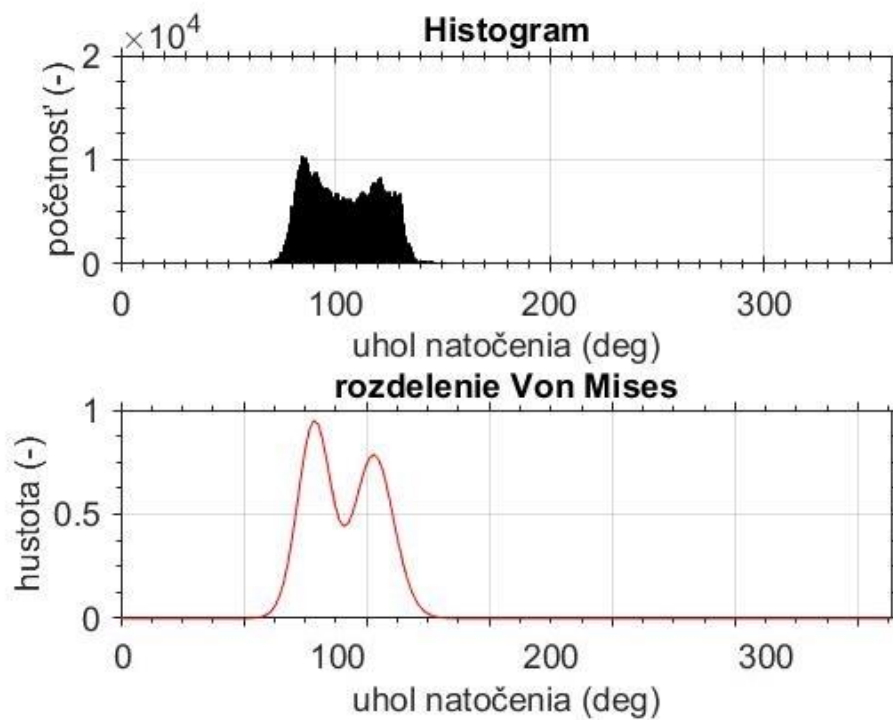
$$\mu_{1C} = 73^{\circ}$$

$$\kappa_{1C} = 10,6$$

$$\mu_{2C} = 112^{\circ}$$

$$\kappa_{2C} = 15,4$$

Hodnoty zistené rozšíreným algoritmom [18] (Graf 7) tiež prepočítame pomocou zloženej funkcie Von Mises.



Graf 7 Vyhodnotenie smeru kolagénových vlákien z dát získaných pomocou rozšíreného algoritmu [18] pre vzorku C

$$\mu_{1C}' = 86^{\circ}$$

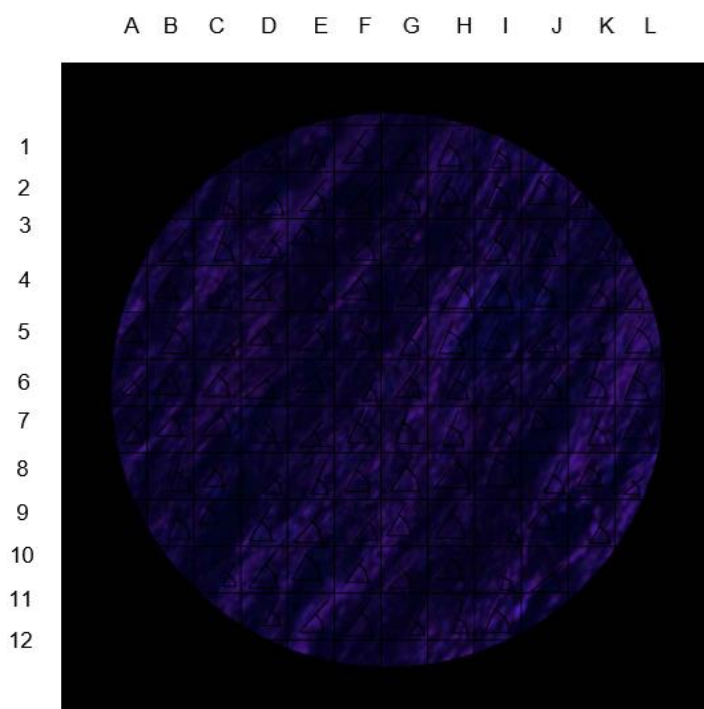
$$\kappa_{1C}' = 14$$

$$\mu_{2C}' = 119^{\circ}$$

$$\kappa_{2C}' = 9,8$$

7.5 Výsledky merania stlačenej aorty

Ako ďalšiu sme merali stlačenú prasaciu aortu (Obr. 18). Na tejto snímke môžeme vidieť, že percentuálne zastúpenia kolagénových vlákien v tepnách nie je tak vysoké ako v šľachách (viď Kapitola 2).



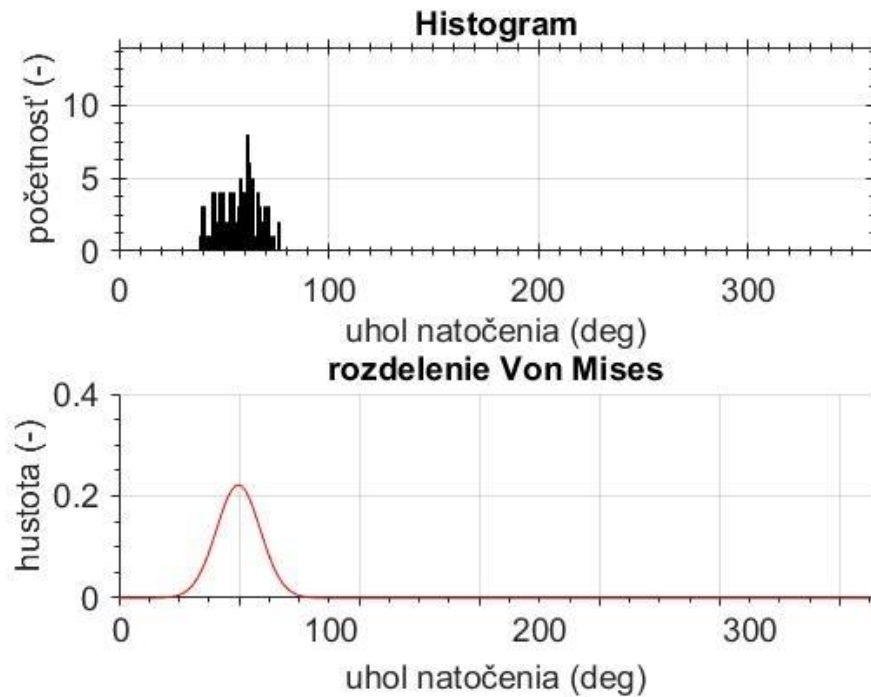
Obr. 18 Snímka C – stlačená prasacia aorta

Namerané hodnoty jednotlivých uhlov v [°] sú zapísané v Tabuľke 9

Tabuľka 8 Namerané hodnoty pre stlačenú aortu

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
1				45	64	55	48	66	70				
2			76	50	52	47	70	63	66	62			
3		51	69	52	58	45	42	57	58	64	59		
4		56	61	45	54	50	58	60	56	61	62	54	
5	53	61	43	46	46	67	57	67	61	45	40	60	53
6	46	48	55	41	41	59	54	62	40	53	71	67	46
7	51	48	46	59	48	64	70	66	61	72	68	62	51
8		74	57	50	68	61	58	49	71	65	64	41	
9		69	60	59	49	50	60	58	61	53	61		
10			63	53	62	55	40	49	76	39			
11				62	47	55	66	71	64				

Následne sme pomocou funkcie Von Mises pre jedno maximum vyhotovili histogram (graf 8)



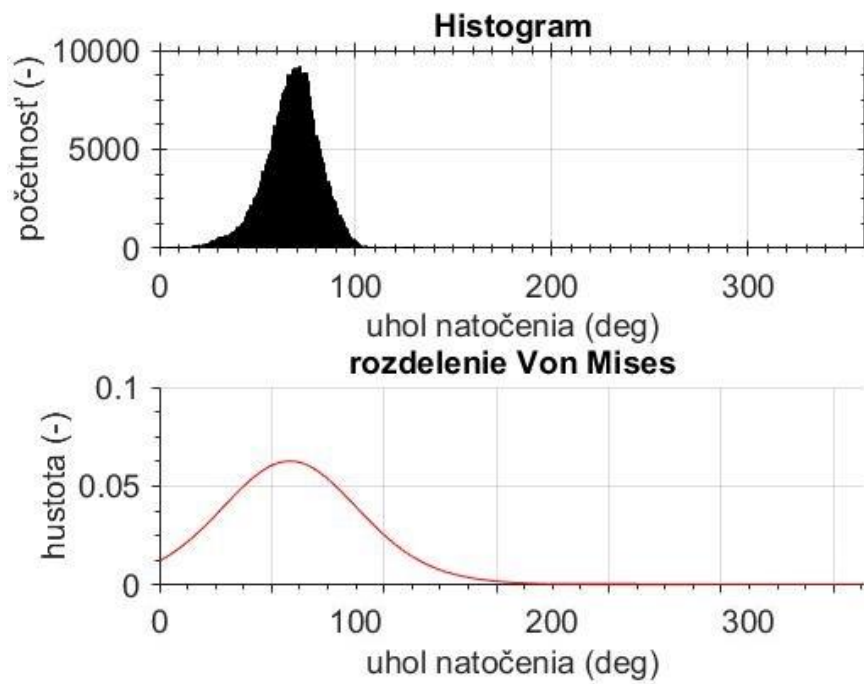
Graf 8 Vyhodnotenie smeru kolagénových vlákien vo vzorke D (prasacia aorta)

Hodnoty jednotlivých parametrov sú

$$\mu_D = 57^\circ$$

$$\kappa_D = 30$$

Po prepočítaní hodnôt získaných z algoritmu [18] funkciou Von Mises (Graf 9) dostaneme parametre



Graf 9 Vyhodnotenie smeru kolagénových vlákien z dát získaných pomocou algoritmu [18] pre vzorku D

$$\mu_D' = 67^\circ$$

$$\kappa_D' = 2,7$$

7.6 Zhodnotenie

Pri porovnaní výsledkov z algoritmu [18] a ručnými meraniami (Tabuľka 10) sme určili rozdiel $10^\circ \pm 3,3^\circ$.

Tabuľka 9 Porovnanie výsledkov

	Ručné meranie		Algoritmus		rozdiel
Vzorka	μ [°]	κ	μ' [°]	κ'	
A	48	53	62	47	14
B	140	42	147	9,5	7
C	73	10,6	86	14	13
	112	15,4	119	9,8	7
D	57	30	67	2,7	10
Priemer [°]					$10 \pm 3,3$

Počas snímkovania vzoriek pre algoritmus sme dodržali presný postup – analyzátor nastavený na 0° , prípadne 30° pri druhej sade, avšak sklíčko vo vnútri tubusu bolo vychýlené voči hlavnej osi rovnobežnej s osou mikroskopu len o malý uhol. Toto posunutie nie je voľným okom viditeľné a odhalili ho až ručné merania. Ďalšie odchýlky výsledkov z dát získaných z algoritmu sú spôsobené tým, že algoritmus rozdelí obraz na jednotlivé pixely a tak získa značne väčšie množstvo dát ako sme schopní získať pri ručnom meraní.

8 Záver

Práca poukazuje na závislosť mechanických vlastností skúmaných histologických preparátov a smerovej orientácie kolagénových vlákien v nich. Matematicky kvantifikuje parametre ich smerového rozloženia.

V teoretickej časti práce je stručne popísaná obehová sústava so zameraním na anatómiu tepien a šliach. Zmieňuje sa tiež o využití polarizačnej mikroskopie na pozorovanie látok vykazujúcich dvojlom. O stavbe jednotlivých vrstiev tepny sa bližšie dozvedáme z uvedených vedeckých článkov. Tiež sa dozvedáme o automatických metódach odčítania orientácia kolagénových vlákien a o spracovaní údajov pomocou rozdelenia Von Mises. Jeden taký algoritmus sa vyvíja na Ústave mechaniky telies, mechatroniky a biomechaniky FSI VUT V Brne a je rozšírením algoritmu K. Nováka a kol. [18].

Na základe hodnôt získaných ťahovou skúškou boli experimentálne určené moduly pružnosti pre vzorky tepien zaťažené v dvoch rôznych smeroch - axiálne a obvodovo. Moduly boli rozdielne, čo znamená, že vzorky majú pri zaťažení v rôznych smeroch rozdielne vlastnosti, jedná sa teda o anizotropný materiál. Mieru anizotropie sme vyjadrili parametrom $k_A \neq 1$. To, že sa jedná o anizotropný materiál, bolo zjavné už z informácií v rešeršnej časti práce o stavbe tepny.

Tepny sú zaťažené tlakom spôsobeným prúdením krvi, čím vzniká v ich stenách napätie. Veľkosť napätia bola vypočítaná s využitím doterajších vedomostí z oblasti lineárnej pružnosti a pevnosti. Tento postup je však možné použiť pre izotropné materiály, ktoré vykazujú iba malé deformácie $\varepsilon < 1\%$. Keďže sú tepny anizotropné, výsledné hodnoty napätia nemusia zodpovedať skutočnému napätiu v stene tepny pri danom zaťažení, preto sa v praxi sa na výpočet napätí používajú metódy nelineárnej mechaniky telies.

Hlavnou úlohou práce bola analýza rozloženia kolagénových vlákien v mäkkých tkanivách. Postupne sme vyhodnocovali rôzne vzorky šliach a aortu. Snímok vzorky získaný polarizačným mikroskopom sme rozdelili na menšie časti a v každej časti sme určili uhol natočenia. Zo získaných údajov boli vytvorené histogramy, ktoré sme aproximovali funkciou Von Mises a tak sme dostali základné parametre rozloženia vlákien v tkanive - hlavný smer rozdelenia a mieru smerového rozptylu. Následne sme použili údaje každej vzorky získané novým rozšíreným algoritmom Nováka a kol. [18]. Je zrejmé, že automatický algoritmus vyhodnotí väčšie množstvo dát ako človek a výsledné hodnoty nebudú úplne totožné. Zistené základné parametre boli porovnané s našim meraním. Keďže rozdiel bol pomerne veľký, až $10^\circ \pm 3,3^\circ$, riešila sa príčina a zistilo sa, že sklíčko v tubuse polarizačného mikroskopu, na ktorom boli snímokované naše vzorky, bolo mierne vychýlené. Toto vychýlenie nebolo možné vidieť voľným okom a odhalilo ho až ručné meranie.

Táto bakalárska práca prispela k verifikovaniu rozšíreného algoritmu K. Nováka [18], ktorý pri správnom nastavení mikroskopu funguje správne a je možné týmto spôsobom určovať rozloženie kolagénových vlákien v mäkkých tkanivách.

9 Referencie

- (1) DYLEVSKÝ, Ivan. *Somatologie*. Vyd. 2. (přepřac. a dopl.). Olomouc: Epava, 2000. ISBN isbn80-86297-05-5
- (2) ČIHÁK, Radomír, Rastislav DRUGA a Miloš GRIM. *Anatomie* 3. 2., upr. a dopl. vyd. Praha: Grada, 2004, 673 s. : il. (některébarev.). ISBN 80-247-1132-X.
- (3) UŠAKOVÁ, Katarína. *Biológia pre gymnázia* 6. Vyd. 1. Bratislava: EXPOL pedagogika, 2005, 104 s. ISBN 80-89003-81-8
- (4) *OpenStax Collage* [online]. Anatomy & Physiology: OpenStax Collage, c2013 [cit. 2018-12-12]. Dostupné z: <https://openstax.org/details/books/anatomy-and-physiology> .
- (5) WALDEN, Mike. Arteries. In: *TeachPE* [online]. c2019 [cit. 2018-28-02] Dostupné z: <https://www.teachpe.com/anatomy/arteries.php>
- (6) HOLZAPFEL Gerhard A., G. SOMMER, T. C. GASSER et al. Determination of layer-specific mechanical properties of human coronary arteries with non atherosclerotic intimal thickening and related constitutive modeling. *HearCircPhysiol*. 2005; 289(5): 2048-58
- (7) BURŠA, J.: Studijní opory - Biomechanika III [online]. [cit. 201602-16]. Dostupné z: <http://www.umt.fme.vutbr.cz/cz/studium/studijni-materialy.html>.
- (8) NOVÁK, K.: Analýza vlivu uspořádání kolagenu na mechanické vlastnosti tepen [Teze dizertační práce], Brno: Vysoké učení technické v Brně, 2015.
- (9) PETERKOVÁ, P. a L. LAPČÍK JR. Kolagen - Vlastnosti, modifikace a aplikace. *Chemicke Listy* [online]. 2000, **94**(6), 371-379 [cit. 2018-12-11]. ISSN 00092770.
- (10) ČIHÁK, Radomír, Miloš GRIM a Oldřich FEJFAR. *Anatomie* 1. 3., upr. a dopl. vyd. Praha: Grada, 2011, 534 s. : il. (převážněbarev.). ISBN 978-80-247-3817-8.
- (11) *Histology-World*, [online] c2007 [cit. 2018-12-12] Dostupné z: <http://www.histology-world.com/photoalbum/displayimage.php?album=27&pid=756>

- (12) DONGRE, Atul, Prajakta BHISEY a Uday KHOPKAR. Polarized lightmicroscopy. *Indian Journal of Dermatology, Venereology, and Leprology* [online]. Medknow Publications, 2007, **73**(3), 206-208 [cit. 2018-12-11]. DOI: 10.4103/0378-6323.32754. ISSN 0378-6323.
- (13) VALENTA, J, Jaroslav VALENTA, Vladimír BÍNA, Vratislav KAFKA, Pavel KOMÁREK, Karel LOBL, Jaroslav NĚMEC a Alexandr PUZAN. *Biomechanika*. Praha: Academia, 1985, 544 s.
- (14) ROBINSON, C. Phillip, Michael W. DAVIDSON. *Polarized Light Microscopy*, In: MicroscopyU [online]. [cit. 2018-10-12] Dostupné z: <https://www.microscopyu.com/techniques/polarized-light/polarized-light-microscopy>
- (15) HOLZAPFEL, Gerhard, Thomas GASSER a Ray OGDEN. A New Constitutive Framework for Arterial Wall Mechanics and a Comparative Study of Material Models. *Journal of elasticity and the physical science of solids* [online]. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2000, **61**(1), 1-48 [cit. 2019-04-28]. DOI: 10.1023/A:1010835316564. ISSN 0374-3535
- (16) SCHRIEFL, Andreas j, Andreas j REINISCH, Sethuraman SANKARAN, David m PIERCE, Gerhard a HOLZAPFEL a Andreas j SCHRIEFL. Quantitative assessment of collagen fibre orientations from two-dimension alimages of soft biological tissues. *Journal of the Royal Society, Interface* [online]. 2012, **9**(76), 3081-3093 [cit. 2019-04-28]. DOI: 10.1098/rsif.2012.0339
- (17) POLZER, Stanislav, T. Christian GASSER, Caroline FORSELL, Hana DRUCKMÜLLEROVA, Michal TICHY, Robert STAFFA, Robert VLACHOVSKY a Jiri BURSA. Automatic identification and validation of planar collagen organizationin theaorta wallwith applicationto abdominalaortic aneurysm. *Microscopy and Microanalysis*. 2013, **19**(6) 1395–1404
- (18) NOVÁK, Stanislav POLZER, Michal Tichy, Jiri BURSA. Automatic Evaluation of Collagen Fiber Directions from Polarized Light Microscopy Images. *Microscopy and Microanalysis*. 2015, **21**(4) 863-875
- (19) GAUL, R.T., D. R. NOLAN, C. LALLY, Collagen fibre characterisation in arterial tissue under load using SALS. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*. 2017, **75** 359-368
- (20) HOFFMAN, Allen H., Zhongzhao TENG, Jie ZHENG, Zheyang WU, Pamela K WOODARD, Kristen L BILLIAR, Liang WANG a Dalin TANG. Stiffness properties of adventitia, media, and full thickness human atherosclerotic

- carotid arteries in the axial and circumferential directions. *Journal of biomechanical engineering*. 2017 **139**(12) s. 124501
- (21) JANÍČEK, P., ONDRÁČEK, E., VRBKA J., BURŠA, J.: *Mechanika těles, Pružnost a pevnost II*, skriptum VUT Brno, CERM, Brno 2006
 - (22) HUMPHREY, J. D., *Mechanics of arterial wall: Review and directions*. *Critical Reviews in Biomed. Engr.* 23 (1995) 1–162
 - (23) IMURA, Katsuyuki YAMAMOTO, Katsushi KANAMORI, Tomohisa MIKAMI, Hisakazu YASUDA. Non-invasive ultrasonic measurement of the elastic properties of the human abdominal aorta. *Cardiovascular Research*, 1986, **20**(3) 208-214 [cit. 2019-04-30]. DOI:10.1093/cvr/20.3.208
 - (24) LAURENT, Xavier GIRERD, Jean Jacques MOURAD, Patrick LACOLLEY, Lionell BECK, Pierre BOUTOUYRIE, Jean Pierre MIGNOT, Michael SAFAR. Elastic modulus of the radial artery wall is not increased in patients with essential hypertension. *Arteriosclerosis and thrombosis : a journal of vascular biology*, 1994, **14**(7) 1223-1231 [cit. 2019-04-30].
 - (25) STEPHANIE, Von Mises Distribution: Simple Definition & Examples. In: *Statistics How To* [online]. c2017 [cit. 2019-29-04] . Dostupné z: <https://www.statisticshowto.datasciencecentral.com/von-mises-distribution/>

10 Zoznam použitých symbolov a skratiek

A, B	[kPa, kPa · mm ²]	Integračné konštanty
E	[kPa]	Modul pružnosti v ťahu
E_1, E_2	[kPa]	Modul pružnosti v jednotlivých fázach zaťažovania
E_{1a}, E_{2a}	[kPa]	Modul pružnosti v axiálnom smere v jednotlivých fázach zaťažovania
E_{1t}, E_{2t}	[kPa]	Modul pružnosti v obvodovom smere v jednotlivých fázach zaťažovania
E_a, E_t	[kPa]	Modul pružnosti pre axiálne a obvodové zaťaženie
\bar{E}	[kPa]	Priemerný modul pružnosti
E_{ink}	[kPa]	Inkrementálny modul pružnosti
F	[N]	Sila
G	[kPa]	Modul pružnosti v smyku
I_0		Modifikovaná Besselova funkcia
k_A	[–]	Parameter anizotropie
k_{A1}, k_{A2}	[–]	Parameter anizotropie v jednotlivých fázach zaťažovania
l_0	[mm]	Začiatočná dĺžka
Δl	[mm]	Zmena dĺžky
n	[–]	Rozsah súboru
p	[kPa]	Tlak
R	[mm]	Stredný polomer tepny
r_1, r_2	[mm]	Vnútorň a vonkajší polomer tepny
r_m, r_t	[mm]	Polomery krivosti v meridiánovom a tangenciálnom smere
S_0	[mm ²]	Začiatočný prierez
t	[mm]	Hrúbka steny
u	[mm]	Posuv
u_1, u_2	[mm]	Posunutie na vnútorňom a vonkajšom polomere

ε	$[-]$	Pretvorenie
$\varepsilon_1, \varepsilon_2$	$[-]$	Pretvorenie na vnútornom a vonkajšom polomere
$\varepsilon_z, \varepsilon_r$	$[-]$	Osové pretvorenia
ε_{lin}	$[-]$	Pretvorenie tepny na konci lineárnej časti zaťažovania
ε_f	$[-]$	Pretvorenie tepny na konci zaťažovania
θ	$[^\circ]$	Uhol natočenia
κ_{A-D}	$[-]$	Parameter koncentrácie určený z manuálneho merania
κ_{A-D}'	$[-]$	Parameter koncentrácie určený z merania algoritmom
λ	$[\text{kPa}]$	Lamého konštanta
μ_{A-D}	$[^\circ]$	Hlavný smer rozdelenia určený z manuálneho merania
μ_{A-D}'	$[^\circ]$	Hlavný smer rozdelenia určený z merania algoritmom
ρ		Rozdelenie Von Mises
σ	$[\text{kPa}]$	Napätie
$\sigma(\bar{E})$	$[\text{kPa}]$	Smerodajná odchýlka
$\sigma_m, \sigma_t, \sigma_r, \sigma_z$	$[\text{kPa}]$	Meriadiánové, tangenciálne, radiálne, osové napätie
σ_{r1}, σ_{r2}	$[\text{kPa}]$	Radiálne napätie na vnútornom a vonkajšom polomere
σ_{t1}, σ_{t2}	$[\text{kPa}]$	Tangenciálne napätie na vnútornom a vonkajšom polomere
σ_f	$[\text{kPa}]$	Napätie v tepne na konci zaťažovania
σ_{lin}	$[\text{kPa}]$	Napätie v tepne na konci lineárnej časti zaťažovania
FFT		Rýchla Fourierová transformácia
FSI		Fakulta strojního inženýrství
VUT		Vysoké učení technické